

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**ELENISE SAUER**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS MULTIVARIADAS  
PARA ANÁLISE DE QUEIJOS POR ESPECTROSCOPIA DRIFT**

**CURITIBA  
2007**

**ELENISE SAUER**

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS MULTIVARIADAS  
PARA ANÁLISE DE QUEIJOS POR ESPECTROSCOPIA DRIFT**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Química, Setor de Ciências Exatas,  
Universidade Federal do Paraná, como requisito  
parcial à obtenção do título de Doutor em  
Química.

Orientador: Prof. Dr. Patricio G. Peralta-Zamora

**CURITIBA  
2007**

Dedico este trabalho  
Aos meus pais Haroldo e Ester,  
A minha filha Bruna e seu pai Elcio,  
Aos meus irmãos Maristel e Marcos

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e permissão para que eu pudesse atingir mais esta etapa tão importante da minha existência.

Aos meus pais, Haroldo e Ester que formaram o alicerce da minha educação.

Aos meus grandes incentivadores, Elcio e Bruna pelo amor e compreensão durante todo o curso.

Aos meus irmãos, cunhados e sobrinho, pelo amor incondicional.

Aos dois irmãos de luta Ciro e Elizabeth, pela força.

Em especial ao professor Patrício, pela orientação, paciência e amizade.

A professora Iara, pelas sugestões e correção dos relatórios.

As minhas amigas Elaine e Gilcéia, pela colaboração.

A todos do grupo Tecnotrater.

A todos do grupo Calibração multivariada.

A UTFPR, pelo empréstimo de seus laboratórios para a execução da fase prática deste trabalho.

A UFPR, pelo curso como um todo.

A todos .....

## RESUMO

O presente trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de metodologias analíticas orientadas a análise de queijos, utilizando-se espectroscopia no infravermelho e ferramentas de calibração multivariada. Inicialmente, estudos foram realizados para verificar a potencialidade da análise de componentes principais (PCA), em relação à discriminação de diferentes tipos de queijo, utilizando-se como critério a sua composição química. Seguidamente, processos de calibração multivariada, particularmente a regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR), foram utilizados para desenvolver modelos orientados à determinação individual e simultânea de características físico-químicas e índice de maturação de queijo prato, utilizando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, no modo de refletância difusa (DRIFTS). Os modelos multivariados individuais e simultâneos foram desenvolvidos correlacionando-se os espectros DRIFT de 16 amostras de queijo prato de diferentes marcas, com os parâmetros de gordura, proteína, umidade, extrato seco, cinzas e pH, determinados conforme método oficial da AOAC (1995). A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada por validação externa, utilizando-se um conjunto de 5 amostras que não fizeram parte do processo de modelagem. Por sua vez, os modelos multivariados, individuais e simultâneos, orientados à determinação dos parâmetros relacionados com o índice de maturação foram desenvolvidos a partir das informações espectrais de 13 amostras de diferentes marcas e dos parâmetros de índice de extensão (IEP) e profundidade da proteólise (IPP), determinados em função dos teores de nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em ácido tricloroacético (TCA). A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada por validação externa, utilizando-se um conjunto de 4 amostras que não fizeram parte do processo de modelagem. Em todos os casos, inúmeros modelos foram elaborados, utilizando-se diversas ferramentas destinadas ao pré-processamento de sinais, assim como vários números de variáveis latentes (VL). Os resultados obtidos demonstram a capacidade das ferramentas de calibração multivariada no desenvolvimento de metodologias espectroscópicas (DRIFT) orientadas à discriminação e à determinação da composição físico-química de queijos. A análise de componentes principais permitiu a discriminação entre diversos tipos de queijo, principalmente em função do teor de umidade, enquanto que modelos multivariados, tanto individuais como simultâneos, permitiram a determinação de gordura, proteína, umidade e extrato seco com excelente aproximação, em relação aos resultados obtidos por aplicação de rotinas convencionais por via úmida. Inúmeras vantagens associadas à utilização de rotinas espectroscópicas multivariadas podem ser salientadas, destacando a extrema simplicidade operacional, a elevada velocidade analítica e a ausência de resíduos químicos, características estas que são possíveis graças à inexistência de processos orientados ao preparo ou abertura de amostras. Modelos individuais e simultâneos foram considerados insatisfatórios para a avaliação dos parâmetros de proteólise. De maneira geral, erros de previsão da ordem de 15 a 20% foram observados na etapa de previsão, provavelmente em razão dos dados espectrais serem insuficientes para representar as pequenas mudanças observadas durante a proteólise do queijo.

**Palavras chave:** queijo, queijo prato, DRIFTS, calibração multivariada, PLS.

## ABSTRACT

The present work has, as main objective, the development of analytical methodologies oriented to cheese analysis. It has used infrared spectroscopy and multivariate calibration tools. In the beginning, studies were made to verify the potentiality of Principal components analysis (PCA) related to the discrimination of different kinds, brands and cheese lots, using its chemical compositions as criteria. Often, multivariate calibration processes particularly the partial least squares regression (PLS) were used to develop models oriented to individual and simultaneous determination of physical-chemical characteristics and *prato* cheese maturation index using infrared spectroscopy with Diffuse Reflection Infrared Fourier Transform Spectroscopy (DRIFTS). The individual and simultaneous multivariate models were developed by correlating the DRIFT spectrums of 16 different brand samples, with the parameters of fat, protein, moistures, dry matter, ashes and pH, determined according to official method of AOAC (1995). The predictive capacity of the models was evaluated by external validation, using a set of 5 samples that did not take part of the modeling process. Now, the multivariate individual and simultaneous models, oriented to determination of parameters related to the maturation index were developed from the spectral information from 13 different brand samples and from the parameters of the extension index (IEP) and proteolysis depth index (IPP), determined according to quantity of total nitrogen, soluble nitrogen, in pH 4,6 and soluble nitrogen in trichloroacetic acid (TCA). The predictive capacity of the models was evaluated by external validation, using a set of 4 samples that did not take part of the modeling process. In all cases several models were elaborated, using divers tool destined to the pre sign processing, as well as several numbers of latent variables (VLs). The obtained results demonstrate the multivariate calibration tool capacity in developing spectroscopic methodologies (DRIFT) oriented to discrimination and determination of cheese physical-chemical composition. The principal component analysis allowed the discrimination among several kinds of cheese, mainly due to moisture level, whereas multivariate models, both individual and simultaneous, allowed the determination of fat, protein, moisture and dry matter with excellent approximation, relating to the results obtained by application of conventional routines by moisture medium. Several advantages related to the use of multivariate spectroscopic routines may be highlighted, focusing on the extreme operational simplicity, high analytical speed and lack of chemical residues. Those characteristics are only possible due to the lack of preparation oriented processes or sample opening. Individual and simultaneous models were considered unsatisfactory to evaluate proteolysis parameters. In general, errors in estimates of approximately 15 to 20% have been found in the estimate phase, probably due to insufficient spectral data to represent subtle changes found during cheese proteolysis.

**Keywords:** cheese, *prato* cheese, DRIFTS, multivariate calibration.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 -	DIAGRAMA DO PROCESSO BÁSICO DE FABRICAÇÃO DE QUEIJOS.....	4
FIGURA 2 -	DIAGRAMA DO PROCESSAMENTO DE QUEIJO PRATO.....	9
FIGURA 3 -	DIAGRAMA REPRESENTATIVO DA PROTEÓLISE EM QUEIJOS.....	12
FIGURA 4 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA REFLEXÃO DIFUSA NA AQUISIÇÃO DE ESPECTROS DE QUEIJO PRATO.....	18
FIGURA 5 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO CENTRAR NA MÉDIA EM ESPECTROS NIR.....	23
FIGURA 6 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE CÁLCULO DE PRIMEIRA DERIVADA EM ESPECTROS NIR.....	23
FIGURA 7 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE ALISAMENTO EM PESPECTROS NIR.....	24
FIGURA 8 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE MSC EM PESPECTROS NIR.....	25
FIGURA 9 -	ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO AUTOESCALAMENTO EM ESPECTROS NIR.....	26
FIGURA 10 -	ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ X DE ESPECTROS NIR (4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ ) PARA ANÁLISE DE MULTIVARIADA.....	27
FIGURA 11 -	ESQUEMA DA PROJEÇÃO DE DADOS DE UMA MATRIZ DE ESPECTROS NIR (4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ ) EM NOVAS COMPONENTES NA ANÁLISE DE PCA.....	27
FIGURA 12 -	REPRESENTAÇÃO DE COMPONENTES PRINCIPAIS DE ANÁLISE DE PCA ASSOCIADA COM ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
FIGURA 13 -	ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ Y COM	

	DADOS DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISE MULTIVARIADA INDIVIDUAL.....	32
FIGURA 14 -	ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ Y COM DADOS DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISE MULTIVARIADA SIMULTÂNEA.....	33
FIGURA 15 -	ESQUEMA DA PROJEÇÃO DE DADOS DE UMA MATRIZ EM NOVAS COMPONENTES NA ANÁLISE DE PLSR (ROHWEDDER, 2006).....	34
FIGURA 16 -	ESPECTROS CARACTERÍSTICOS DE QUEIJOS DIFERENTES OBTIDOS NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ E NO INFRAVERMELHO MÉDIO DE 3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ .....	47
FIGURA 17 -	“LOADINGS” DA CP1 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES.....	49
FIGURA 18 -	“LOADINGS” DA CP2 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES.....	50
FIGURA 19 -	“SCORES” CP2 <i>VERSUS</i> CP1, NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES.....	51
FIGURA 20 -	ESPECTRO CARACTERÍSTICO DE QUEIJO PRATO OBTIDO NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ E INFRAVERMELHO MÉDIO DE 3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ .....	55
FIGURA 21 -	“LOADINGS” DA CP1 NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ) NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	57
FIGURA 22 -	“LOADINGS” DA CP2 NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ) NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	57
FIGURA 23 -	“SCORES” CP1 <i>VERSUS</i> CP2 NA ANÁLISE DAS	



	COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	58
FIGURA 24 -	“LOADINGS” DA CP1 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	59
FIGURA 25 -	“LOADINGS” DA CP2 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO	60
FIGURA 26 -	“SCORES” DA CP1 <i>VERSUS</i> CP2, NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	60
FIGURA 27 -	EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS MULTIVARIADOS ORIENTADOS À DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA (A), PROTEÍNAS (B) E UMIDADE (C). REGIÃO (1) 1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800 $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4) MSC E ALISAMENTO.....	62
FIGURA 28 -	EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS MULTIVARIADOS ORIENTADOS À DETERMINAÇÃO DO TEOR DE EXTRATO SECO (A), CINZAS (B) E pH (C). REGIÃO: (1) 1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800 $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3)	

	MSC; (4) MSC E ALISAMENTO.....	63
FIGURA 29 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC, RMSECV E RMSEP EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	67
FIGURA 30 -	“LOADINGS” DA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	68
FIGURA 31 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	68
FIGURA 32 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	69
FIGURA 33 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), sem PRÉ-PROCESSAMENTO e 4 VL.....	69
FIGURA 34 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	70
FIGURA 35 -	“LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA	

	REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	71
FIGURA 36 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	72
FIGURA 37 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL.....	72
FIGURA 38 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 a 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO e 4 VL.....	73
FIGURA 39 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	74
FIGURA 40 -	“LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	75
FIGURA 41 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	75
FIGURA 42 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO	

	INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL .....	76
FIGURA 43 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	77
FIGURA 44 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	78
FIGURA 45 -	“LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	78
FIGURA 46 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE E. SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	79
FIGURA 47 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	80
FIGURA 48 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.....	80
FIGURA 49 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS	

	LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL.....	81
FIGURA 50 -	“LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL.....	82
FIGURA 51 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE E. SECO NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL.....	83
FIGURA 52 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL.....	83
FIGURA 53 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL.....	84
FIGURA 54 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (4000 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL.....	85
FIGURA 55 -	“LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (4000 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL.....	85
FIGURA 56 -	COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO	

	INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (4000 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL.....	86
FIGURA 57 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (4000 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL.	87
FIGURA 58 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (4000 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL.....	87
FIGURA 59 -	EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA (A), PROTEÍNAS (B). REGIÃO: (1) 1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800 $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4): MSC E ALISAMENTO..	89
FIGURA 60 -	EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DE UMIDADE E EXTRATO SECO (A); CINZAS (B). REGIÃO: (1) 1520 a 3760 $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 a 6800 $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 a 7500 $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 e 4000 A 7500 $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4) MSC E ALISAMENTO...	90
FIGURA 61 -	PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES MÉDIOS DE RMSEC, RMSECV E RMSEP EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO	

	PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3.....	92
FIGURA 62 -	“LOADINGS” PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3.....	93
FIGURA 63 -	COEFICIENTES DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3.....	94
FIGURA 64 -	RESÍDUOS DE “STUDENT” <i>VERSUS</i> “LEVERAGE” PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA, PROTEÍNA, UMIDADE, E. SECO E CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3.....	95
FIGURA 65 -	COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA, PROTEÍNA, UMIDADE, E. SECO E CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3.....	96
FIGURA 66 -	VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES E PERCENTUAL DE VARIÂNCIA WXPLICADA PARA O MODELO PLS1 PARA IEP (A) E IPP(B) NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ).....	101
FIGURA 67 -	“LOADINGS” PARA O MODELO PLS DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ).....	102
FIGURA 68 -	VALORES DO COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM	

	CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ ).....	103
FIGURA 69 -	VALORES DE “LEVERAGE” <i>VERSUS</i> VALORES DE RESÍDUOS DE “STUDENTS” PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ )...	104
FIGURA 70 -	VALORES DE REFERÊNCIA <i>VERSUS</i> VALORES PREVISTOS PELO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760 $\text{cm}^{-1}$ )...	105
FIGURA 71 -	VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES E PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA PARA O MODELO PLS1 DE IEP (A) E IPP (B) NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ .....	108
FIGURA 72 -	“LOADINGS” PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E DE IPP COM TRÊS VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ .....	109
FIGURA 73 -	VALORES DO COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E DE IPP COM TRÊS VL (B), NO INFRAVERMELHO MÉDIO DE 6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ .....	110
FIGURA 74 -	VALORES DE “LEVERAGE” <i>VERSUS</i> VALORES DE RESÍDUOS DE STUDENT PARA MODELO PLS1 PARA IEP COM QUATRO VL (A) E IPP COM TRÊS VL (B) NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ .....	111
FIGURA 75 -	VALORES DE REFERÊNCIA <i>VERSUS</i> VALORES PREVISTOS PELO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E IPP COM TRÊS VL (B) NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ .....	112



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE DIFERENTES TIPOS DE QUEIJOS.....	38
TABELA 2 -	VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES.....	49
TABELA 3 -	RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	54
TABELA 4 -	VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	56
TABELA 5 -	VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520 $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	59
TABELA 6 -	RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS PARA DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NO INFRAVERMELHO. PRÉ-PROCESSAMENTOS: CM (CENTRADO NA MÉDIA), MSC (CORREÇÃO DO ESPALHAMENTO MULTIPLICATIVO), S5 (5 PONTOS DE ALISAMENTO, AJUSTE POLINOMIAL DE ORDEM 2 E PRIMEIRA DERIVADA) E S21 (21 PONTOS DE ALISAMENTO, AJUSTE POLINOMIAL DE ORDEM 2 E PRIMEIRA DERIVADA).....	65
TABELA 7 -	RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NO INFRAVERMELHO	

	PRÓXIMO (7500 A 4000 $\text{cm}^{-1}$ ), COM DIFERENTES PRÉ-PROCESSAMENTOS.....	91
TABELA 8 -	RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES FRAÇÕES NITROGENADAS DE QUEIJO PRATO.....	97
TABELA 9 -	VALORES CALCULADOS PARA ÍNDICE DE EXTENSÃO DE PROTEÓLISE (IEP) E ÍNDICE DE PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE (IPP) PARA AS AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO.....	98
TABELA 10 -	RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS1 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (MID).....	106
TABELA 11 -	RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS1 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR).....	113
TABELA 12 -	RESULTADO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO.....	114
TABELA 13 -	RESULTADO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO.....	115

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>ABIA</b>	- Associação Brasileira da Indústria Alimentícia.
<b>ABIQ</b>	- Associação Brasileira das Indústrias de Queijos.
<b>AOAC</b>	- Association of Official Analytical Chemists.
<b>AU</b>	- Autoescalamento.
<b>° C</b>	- Grau Celsius.
<b>Cal</b>	- Calibração.
<b>CM</b>	- Centrado na média.
<b>CV</b>	- Coeficiente de variação.
<b>CP</b>	- Componente principal.
<b>CP1</b>	- Primeira componente principal.
<b>CP2</b>	- Segunda componente principal.
<b>DTGS</b>	- Detector de sulfeto de triglicerina deuterada.
<b>DP</b>	- Desvio padrão.
<b>DPR</b>	- Desvio padrão relativo (coeficiente de variação).
<b>DRIFT</b>	- Refletância difusa com transformada de Fourier.
<b>DRIFTS</b>	- Espectroscopia por refletância difusa com transformada de Fourier.
<b>ER</b>	- Erro relativo.
<b>FTIR</b>	- Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.
<b>ID</b>	- Identificação das amostras.
<b>IEP</b>	- Índice de extensão da proteólise.
<b>IPP</b>	- Índice de profundidade da proteólise.
<b>m17</b>	- Identificação de matriz de espectros.
<b>m17a</b>	- Identificação de matriz de espectros.
<b>MD</b>	- Valor médio.
<b>MI</b>	- Valor mínimo.
<b>MID</b>	- Infravermelho médio.
<b>MLR</b>	- Regressão linear múltipla.
<b>LWR</b>	- Regressão por peso localizado.
<b>MSC</b>	- Correção do espalhamento multiplicativo.
<b>Mqp16</b>	- Identificação de matriz de espectros.

<b>Mqp17</b>	- Identificação de matriz de espectros.
<b>Mqp17a</b>	- Identificação de matriz de espectros.
<b>MX</b>	- Valor máximo.
<b>NSLAB</b>	- Bactérias não adicionadas com o fermento láctico.
<b>NIPALS</b>	- Algoritmo matemático para o PLSR.
<b>NIR</b>	- Infravermelho próximo.
<b>PRESS</b>	- Soma dos quadrados dos erros de previsão.
<b>RMSEC</b>	- Raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração.
<b>RMSECV</b>	- Raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada sistema "leave one out".
<b>RMSEP</b>	- Raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão.
<b>S3</b>	- Alisamento com 3 pontos, polinômio de ordem 2 e primeira derivada.
<b>RR</b>	- Regressão Seqüencial.
<b>S5</b>	- Alisamento com 5 pontos, polinômio de ordem 2 e primeira derivada.
<b>S21</b>	- Alisamento com 21 pontos, polinômio de ordem 2 e primeira derivada.
<b>SIMPLS</b>	- Algoritmo matemático para o PLSR.
<b>SPP</b>	- Sem pré-processamento.
<b>PCA</b>	- Análise de componentes principais.
<b>PCR</b>	- Regressão de componentes principais.
<b>PLSR</b>	- Regressão de mínimos quadrados parciais.
<b>PP</b>	- Pontos percentuais.
<b>PRESS</b>	- Erro de validação cruzada.
<b>PREV</b>	- Valor previsto.
<b>Q</b>	- Estatístico Q.
<b>T<sup>2</sup></b>	- Estatístico T.
<b>TCA</b>	- Ácido tricloroacético.
<b>USDA</b>	- United States Departament of Agriculture.
<b>Val</b>	- Validação externa.
<b>VIS</b>	- Visível.
<b>VL</b>	- Variável latente.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
2.1 QUEIJOS .....	3
2.1.1 Valor nutricional dos queijos.....	7
2.1.2 Queijo prato.....	8
2.1.3 Controle de qualidade de queijos.....	10
2.1.3.1 Controle físico-químico.....	10
2.1.3.2 Controle da maturação de queijos.....	11
2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	14
2.2.1 Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS).....	17
2.3 QUIMIOMETRIA.....	20
2.3.1 Pré-processamento dos dados.....	22
2.3.1.1 Dados centrados na média (CM).....	22
2.3.1.2 Cálculo de primeira derivada.....	23
2.3.1.3 Alisamento por média móvel (filtro digital – “Smoothing”).....	24
2.3.1.4 Correção do espalhamento multiplicativo (MSC).....	24
2.3.1.5 Autoescalamento (AU).....	25
2.3.2 Análise de Componentes Principais (PCA).....	26
2.3.3 Análise de Mínimos Quadrados Parciais (PLSR).....	31
<b>3 OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
4.1 AMOSTRAS E AMOSTRAGEM.....	38
4.1.1 Amostras e amostragem de diferentes tipos de queijos.....	38
4.1.2 Amostras e amostragem de queijo prato.....	39
4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS.....	39
4.2.1 Extrato seco e umidade.....	39
4.2.2 Cinzas.....	40
4.2.3 Gordura.....	40
4.2.4 Frações nitrogenadas.....	41
4.2.4.1 Nitrogênio total (NT).....	41

4.2.4.2 Determinação de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS).....	42
4.2.4.3 Nitrogênio não protéico (NNP).....	42
4.2.4.4 Índice de proteólise.....	43
4.2.5 pH.....	43
4.2.6 Cloreto (como NaCl).....	43
4.2.7 Acidez titulável.....	44
4.3 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS.....	44
4.4 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS.....	45
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>47</b>
5.1 DISCRIMINAÇÃO DE DIFERENTES TIPOS DE QUEIJO.....	47
5.1.1 Caracterização Espectroscópica de Diferentes tipos de queijo.....	47
5.1.2 Discriminação de diferentes tipos de queijos utilizando análise de componentes principais (PCA).....	48
5.2 QUEIJO PRATO.....	52
5.2.1 Caracterização físico-química.....	52
5.2.2 Caracterização Espectroscópica.....	55
5.2.3 Análise das componentes principais (PCA) dos espectros de queijo prato para composição dos conjuntos de calibração e validação externa.....	56
5.2.4 Determinação multivariada individual (PLS1) de parâmetros físico- químicos de queijo prato.....	61
5.2.4.1 Determinação multivariada individual de gordura de queijo prato.....	66
5.2.4.2 Determinação multivariada individual (PLS1) de proteína de queijo prato.....	70
5.2.4.3 Determinação multivariada individual (PLS1) de umidade de queijo prato.....	73
5.2.4.4 Determinação multivariada individual de extrato seco de queijo prato...	77
5.2.4.5 Determinação multivariada individual (PLS1) de cinzas de queijo prato	81
5.2.4.6 Determinação multivariada individual (PLS1) de pH.....	84
5.2.5 Determinação multivariada simultânea (PLS2) de parâmetros físico- químicos de queijo prato.....	88
5.2.6 Caracterização das diferentes frações nitrogenadas de queijo prato.....	97
5.2.7 Determinação multivariada individual (PLS1) dos Índices de proteólise...	100

5.2.7.1 Determinação multivariada individual (PLS1) do Índice de extensão e profundidade da proteólise por espectroscopia no infravermelho médio	100
5.2.7.2 Determinação multivariada PLS1 do Índice de extensão e profundidade da proteólise por espectroscopia no infravermelho próximo.....	107
5.2.8 Determinação multivariada simultânea (PLS2) dos índices de proteólise	114
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>117</b>
<b>7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>118</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>119</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com a evolução dos processos industriais e o conseqüente surgimento de inúmeros produtos que rapidamente se tornaram de primeira necessidade, a atividade industrial adquiriu um caráter essencial na sociedade contemporânea (FREIRE *et al.*, 2000). Dentro deste contexto, importante destaque pode ser dado ao setor alimentício, que contribui decisivamente com a economia do país (ABIA, 2006).

Para priorizar o fornecimento de produtos alimentícios seguros, uniformes e com qualidade, o sistema produtivo precisa manter um rigoroso controle de qualidade, de maneira a atender, não somente a critérios impostos pelos órgãos fiscalizadores, mas também à demanda de mercado, à redução de custos e à manutenção da competitividade (BELLAYER, 2001).

Por motivos óbvios, os métodos de controle precisam ser confiáveis, eficientes e rápidos, características estas que normalmente não são atendidas pelas metodologias tradicionais de análise, as quais se caracterizam por serem demoradas e geradoras de grandes quantidades de resíduos (GELADI, 2003).

O monitoramento da identidade e dos requisitos mínimos de qualidade do queijo, por exemplo, consome aproximadamente 15 horas de trabalho de laboratório, utilizando-se procedimentos por via úmida para determinação de gordura, proteína e umidade recomendados pelas metodologias oficiais (BRASIL, 1997c). A utilização destes procedimentos dificulta o monitoramento rotineiro da maioria dos produtos alimentícios, condição vital para assegurar o cumprimento de padrões relacionados com a identidade e qualidade prevista pelo Ministério da Agricultura.

Atualmente, muitas metodologias que utilizam técnicas instrumentais associadas a ferramentas de calibração multivariada têm sido relatadas na literatura, com o objetivo de reduzir o tempo de análise, sem comprometer a confiabilidade dos resultados. Métodos de análise fundamentados em espectroscopia no infravermelho tiveram grande evolução quando associados à Quimiometria, a qual, embora recente, teve enorme impacto no desenvolvimento de rotinas de análise, principalmente em razão da integração entre equipamentos e softwares quimiométricos (GELADI, 2003).



Dentre os vários métodos multivariados disponíveis, destaque pode ser dado à regressão de mínimos quadrados parciais (PLS), método que se mostra mais eficiente para contornar problemas associados a ruído instrumental e colinearidade (FERREIRA *et al.*, 1999). Os fundamentos deste processo de calibração são bem conhecidos, podendo ser consultados na literatura recente (VIGNEAU; QANNARI; BERTRA, 2002 e FEUDALE *et al.*, 2002).

A análise multivariada vem sendo maciçamente utilizada na área de alimentos, permitindo a análise sensorial de leite (FRØST, DIJKSTERHUIS; MARTENS, 2001), a caracterização sensorial e de textura de queijo cheddar (TRUONG *et al.*, 2002), e a correlação química e sensorial de queijo parmigiano-reggiano (VIRGILI *et al.*, 1994). De acordo com ADAMOPOULOS; GOULA; PETROPAKIS (2001), a associação entre espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) e ferramentas de calibração multivariada permite a redução de erros humanos e o aumento da frequência de análise.

O principal objetivo do presente trabalho consiste em propor uma metodologia espectroscópica multivariada que permita a determinação rotineira de parâmetros físico-químicos em amostras de queijo, assim como o desenvolvimento de uma metodologia de reconhecimento de padrões (Análise de Componentes Principais, PCA) que permita a discriminação entre diversos tipos de queijo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 QUEIJOS

As origens históricas da produção de queijo nos remetem a alguns países da Europa, como França e Suíça, que contribuíram de forma decisiva com descobertas sobre fermentação e pasteurização e com o desenvolvimento de técnicas especiais para fabricação de queijos (LEITE *et al.*, 2006).

Nos últimos anos, a produção e a demanda mundial de derivados lácteos vêm crescendo significativamente. O consumo mundial de queijo cresceu 21% nos últimos dez anos, estimando-se uma continua ascensão para o período de 2005 até 2015. Os indicadores apontam para um crescimento médio de 14% para o consumo mundial, enquanto que para países como Brasil, China e Índia, a expectativa é mais promissora, com previsão de dobrar este valor (USDA, 2006). O Brasil produziu em 2006 aproximadamente 500 mil toneladas de queijos (USDA, 2007).

Embora o processo básico de fabricação (Figura 1) seja comum a quase todos os tipos de queijo, existem inúmeras variações relacionadas com a origem do leite, as técnicas de processamento e o tempo de maturação. As possíveis variações destes parâmetros criam a imensa variedade de queijos conhecida (cerca de 1.000 tipos), das quais 400 são produzidas na França (PERRY, 2004; ARA *et al.*, 2002; SANDINE e ELLIKER, 1981).

No Brasil é produzida uma grande variedade de queijos, que refletem a diversidade da formação cultural do país. Há queijos mais tipicamente brasileiros e há outros inspirados nos conhecimentos queijeiros trazidos ao país por franceses, dinamarqueses, italianos e, mais recentemente, queijos introduzidos por hábitos alimentares ingleses e americanos.

Neste trabalho utilizaram-se amostras de diferentes tipos de queijos disponíveis no comércio, dentre as quais se destacam as salientadas a seguir:

O queijo **Minas padrão**, também conhecido como minas curado, minas prensado, ou minas serro, é de origem brasileira, fabricado com leite pasteurizado e massa crua, sendo prensado e maturado antes do consumo. É um queijo de textura

aberta, com poucas olhaduras, de consistência semidura, sabor levemente ácido, cor interna branco-creme e alta umidade (MACHADO *et al.*, 2004).

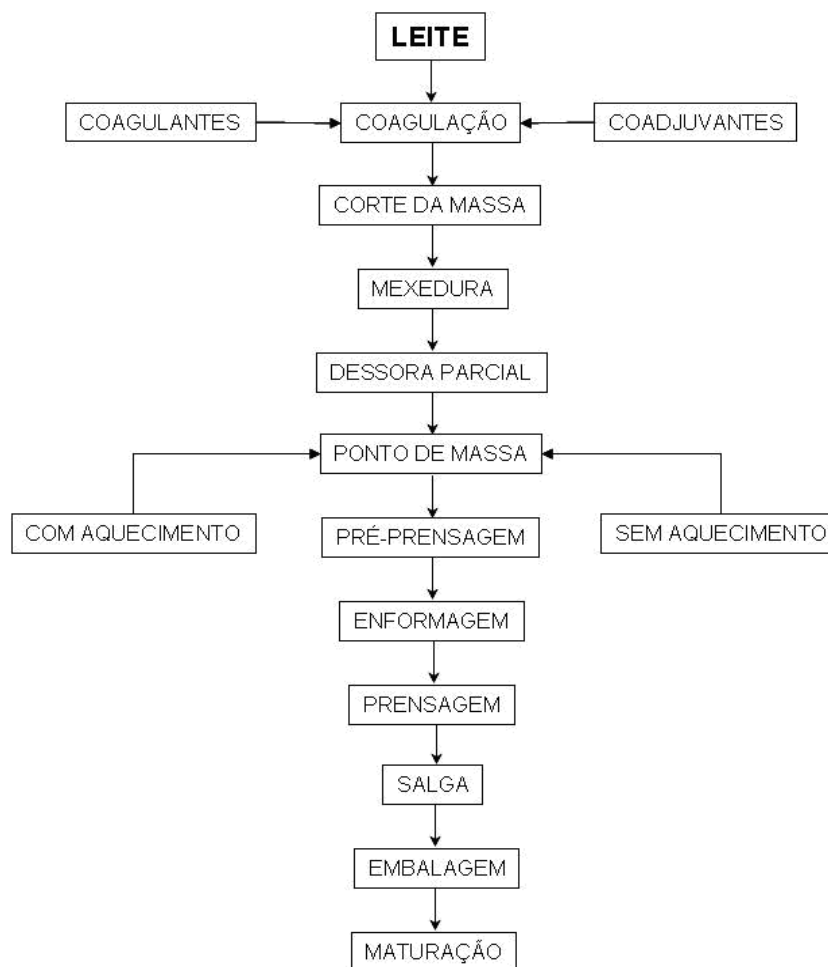


FIGURA 1 - DIAGRAMA DO PROCESSO BÁSICO DE FABRICAÇÃO DE QUEIJOS

FONTE: Adaptado de Barros *et al.* (2006)

O queijo **Estepe** tem origem dinamarquesa, recebendo este nome em razão de ter sido levado para as estepes russas. É fabricado com leite filtrado e pasteurizado, submetido a um processo de semi-cozimento, prensagem, salga e maturação por aproximadamente 40 dias, quando revela textura semi-dura com massa plena de olhaduras, provocadas por fermentos especiais adicionados ao leite. Seu sabor é suave e amendoado, ligeiramente doce (ABIQ, 2005). Os queijos tipo

estepe produzidos no Brasil são considerados uma variedade do prato, diferindo quanto ao formato e peso (NARIMATSU, *et al.*, 2003).

O queijo **Reino** é originado do Edam holandês, que era importado do reino de Portugal. É um queijo firme, bem mais seco e de sabor acentuado. Deve ser curado por no mínimo 2 meses (ABIQ, 2005).

O **Mussarela**, de origem italiana, é fabricado a partir de leite pasteurizado. É o queijo mais fabricado e consumido no Brasil. Há várias tecnologias para sua produção, por isso são encontradas em diferentes variações. Pode variar de média, alta ou muito alta umidade (máximo 60%) e extra gordo, gordo a semigordo (BRASIL, 1997d).

O **Mozzarella de búfala** é original da Itália, de massa filada, de textura cremosa e cor branca brilhante. Seu sabor é lácteo, fresco e ligeiramente adocicado. Sua apresentação mais tradicional é em bolas acondicionadas em soro, mas pode apresentar-se de várias formas, drenadas e também em blocos para fatiar (VERRUMA e SALGADO, 1994).

O queijo **Cheddar** é de origem inglesa, teve mudanças no processo de produção desde sua criação, deve ser maturado por dois meses (FOX e MCSWEENEY, 2004).

O queijo **Gouda** é de origem holandesa, apresentando textura semidura, de média umidade, com olhaduras (FURTADO, 2002). Produzido com massa semicozida, apresenta aspecto semelhante ao queijo prato, textura mais firme e de paladar mais picante (BRASIL, 2006).

O queijo **Maasdammer** foi criado na Holanda como alternativa ao Emmental, combina as características do Gouda, amanteigado e firme, com o aroma do Emmental, apresenta grandes olhaduras e estrutura elástica, sabor suave, levemente adocicado, formato cilíndrico, casca espessa e parafinada (KÖLLMANN e PENDERS, 1993).

O **Gruyère** é de origem francesa, obtido de leite cru ou pasteurizado, de massa cozida e prensada, deve ser maturado no mínimo, quatro meses. Tem formato cilíndrico, crosta firme e grossa. Sua consistência é semidura, elástica, semi-amanteigada; com olhadura características, ovalada e de cor amarelo-clara. Seu odor é característico, agradável, e seu sabor é adocicado, levemente picante (PERRY, 2004).

O **Parmesão** é um queijo de origem italiana, mas bastante popular no Brasil, fabricado com leite pasteurizado ou reconstituído padronizado, de baixa umidade, semigordo, de massa pré-cozida e prensada. Seu tempo de maturação deve ser de, no mínimo, seis meses, não podendo ultrapassar dois anos (BRASIL, 1997a).

**Provolone** é o queijo de massa filada, não prensada, feita de leite pasteurizado. Tem formato variável, com consistência, textura, cor e sabor igual ao Mussarela (BRASIL, 2003).

O queijo **Roquefort** é um queijo típico do sul da França, produzido com leite de ovelha, não prensado, levemente úmido, com veios de mofo com matiz azul, sabor notável de ácido butírico, sem casca e levemente salgado. Tem consistência quebradiça e sua textura é fechada, com poucas e pequenas olhaduras. Sua cor é branco-creme, com formações características, bem-distribuídas, verde-azuladas, devidas ao *Penicillium roqueforti* (PERRY, 2004).

O queijo **Gorgonzola** é de origem italiana e segundo FURTADO e LOURENÇO NETO (1994), diferencia-se do Roquefort pelo fato de ser produzido a partir de leite pasteurizado e apresentar as características de massa macia, crua, gorda, de cor branca matizada pelo desenvolvimento do mofo e apresentar composição de 43 a 45% de umidade; 28 a 30% de gordura; 21% de proteína e 3,0 a 3,5% de sal.

**Chanclich** é uma variedade de queijo árabe, recoberto por uma camada de condimentos e tem sabor picante.

Denomina-se **Queijo Processado** ao produto obtido por trituração, mistura, fusão e emulsão por meio de calor e agentes emulsificantes de uma ou mais variedades de queijo, com ou sem adição de outros produtos de origem láctea ou especiarias, condimentos ou outras substâncias alimentícias, no qual o queijo constitui o ingrediente lácteo utilizado como matéria prima preponderante na base láctea (BRASIL, 1997b). O produto a base de queijo utilizado na pesquisa apresentava-se com composição contendo queijos de diferentes tipos (mussarela e prato), adicionado de espessantes, estabilizantes e saborizantes artificiais. Diferencia-se dos queijos processados por conter gordura vegetal.

O queijo **Colonial** recebe este nome em razão de ser produzido por colonos da região rural, muito comum no sul do Brasil. É fabricado com leite cru, filtrado, adicionado de coalho bovino, e em alguns casos recebe adição de cultura láctica preparada no próprio local (coalhada).

### 2.1.1 Valor nutricional dos queijos

O queijo é um alimento de alta relevância nutricional, sendo considerado como um dos alimentos mais completos e recomendados para compor a dieta de um indivíduo. A sua composição depende, em grande parte, do leite e da tecnologia utilizada. No entanto, a maioria dos queijos destaca-se pelo teor relevante de proteínas, gordura, minerais e oligoelementos, como cálcio, zinco, potássio e de vitaminas A, B2, B9, B12, D, (LOBATO, 2004 e ABIQ, 2005).

O teor de aminoácidos essenciais associado às proteínas dos queijos lhes confere um alto valor biológico e uma digestibilidade próxima a 95%, sendo absorvidas quase integralmente na altura do intestino e fornecendo ao organismo os aminoácidos necessários ao seu desenvolvimento (ABIQ, 2005). Entretanto, esses valores podem ser variáveis, como a digestibilidade das proteínas que pode aumentar com o tempo de maturação (QUATTRUCCI *et al.*, 1997).

Os queijos são excelentes fontes de cálcio, necessário para formação do sistema ósseo (GUÉGUEN e POINTILLART, 2000), cujo teor varia em função do teor de umidade e da técnica de fabricação dos queijos. Os queijos de massa prensada cozida chegam a apresentar até mais que 1.200 mg/Kg de cálcio (ABIQ, 2005). Apresenta coeficiente de absorção, semelhante ao do leite, sendo que a sua biodisponibilidade é favorecida pela presença simultânea de fósforo e pela presença de peptídeos que foram identificados como transportadores de cálcio (GUÉGUEN, 1992; RECKER *et al.*, 1988; SMITH *et al.* 1985; BROMMAGE, JUILLERAT; JOST, 1991).

Apresenta teores de lipídios variáveis de acordo com o tipo de queijo, que se encontram na forma de emulsão, característica que confere boa digestibilidade. São compostos de ácidos graxos saturados, mono e poliinsaturados. Apresentam ácidos graxos trans em quantidades dependentes do leite utilizado e da região produtora. Em geral, apresentam dois ácidos graxos trans, o ácido vacênico e o ácido rumênico, os quais têm importância funcional para saúde humana (ABIQ, 2005; VALEILLE e MARTIN, 2004).

Os queijos maturados têm a lactose convertida durante o processo, tornando-se assim uma opção alimentar aos portadores de intolerância à lactose,

uma das causas mais freqüentes de diarreia crônica, principalmente em crianças (ROVILLÉ-SAUSSE, 2004).

### 2.1.2 Queijo prato

O prato é o segundo queijo de maior produção no Brasil (ABIQ, 2005), sendo processado com massa semicozida, de maneira similar ao queijo Danbo (Dinamarca) e Gouda e Edam (Holanda) (FURTADO e LOURENÇO NETO, 1994; MORENO *et al.*, 2002). Este tipo de queijo, juntamente com mussarela, minas frescal e requeijão, são os mais consumidos no país, com uma produção média de cerca de 70 mil toneladas (CHICHOSKI *et al.*, 2002).

Este queijo é obtido através da coagulação enzimática do leite, podendo ou não apresentar ação de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997c). Caracteriza-se por apresentar, durante o seu processamento, uma etapa de semicozimento da massa, que pode ser realizado de forma direta, pela adição de água quente, ou indireta, pelo aquecimento das paredes do tanque de fabricação (SOUZA, 1960). Para adquirir suas características típicas de sabor e textura, deve ser maturado por um período de no mínimo 25 dias (BRASIL, 1997c).

De maneira geral, a fabricação do queijo prato segue a tecnologia tradicional apresentada no diagrama da Figura 2 (BARROS *et al.*, 2006), utilizando-se leite pasteurizado (72 °C/15-20 segundos). Após a pasteurização, o leite é resfriado a temperatura de 32-35° C, adicionado de corante vegetal urucum, fermento láctico, solução de cloreto de cálcio e coalho microbiano (ou coalho bovino em pó), em quantidade calculada levando-se em consideração o poder coagulante do coalho. Após a adição do coalho o leite deve ser mantido a 32° C por 40 minutos para ocorrer a coagulação. Decorrido esse tempo, a massa é cortada em cubos de 1,0 cm de aresta empregando-se liras manuais mecânicas. Terminada a etapa de corte inicia-se o tratamento da massa com agitação lenta e cuidadosa por 15 minutos. Após esse tempo realiza-se uma dessora parcial (40% soro) para iniciar o pré-cozimento. A etapa de pré-cozimento da massa consiste na adição direta de água aquecida a 80° C para aumentar a temperatura da massa de 34° C para 42° C. Este pré-cozimento tem como objetivo a desidratação da massa para ajustar o teor de

umidade. Quando a massa atinge 42° C inicia-se a dessoragem total. Em seguida transfere-se a massa para um tanque de pré-prensagem, onde se aplica uma força de 10 vezes o peso da massa, por 15 minutos.

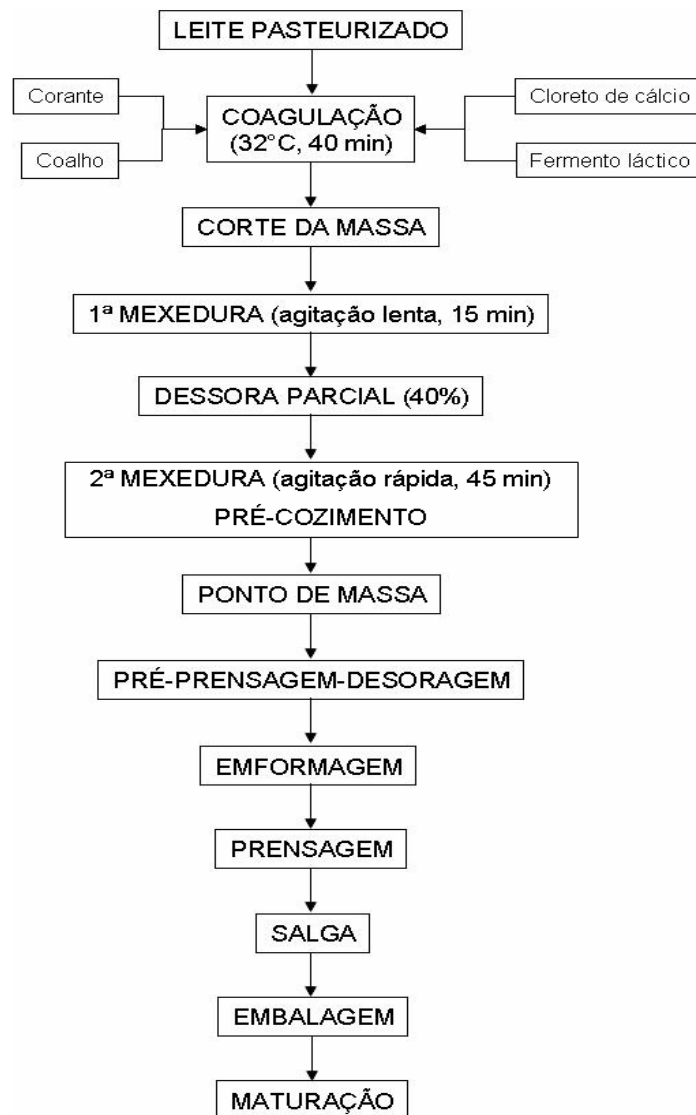


FIGURA 2 - DIAGRAMA DO PROCESSAMENTO DE QUEIJO PRATO

FONTE: Adaptado de Barros *et al.* (2006)

Ao término da pré-prensagem corta-se a massa e coloca-se em formas de 500 g para realização da prensagem final por um período de 30 minutos. Por fim os queijos são retirados da forma e colocados na salmoura. O processo de salga úmida é realizado em salmoura (concentração 20%) a 10 °C por um período de 12 horas,



com um volume de 5 litros por quilograma de queijo. Após esse período os queijos são retirados da salmoura e deixados em uma câmara a 12 °C por 12 horas para eliminação da umidade. Em seguida os queijos são pesados e embalados a vácuo para serem conduzidos a câmara de maturação a 12 °C e umidade relativa controlada por 25 dias, no mínimo.

### 2.1.3 Controle de qualidade de queijos

#### 2.1.3.1 Controle físico-químico

O controle de qualidade físico-químico de queijos envolve a determinação de macro-constituintes como gordura, proteína, umidade, cinzas e pH, utilizando-se metodologias padrão, reconhecidas pela “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC, 1995). Tais determinações fazem parte do monitoramento rotineiro em indústrias de produtos lácteos, principalmente para assegurar o cumprimento de padrões relacionados com a identidade e qualidade dos produtos lácteos, emitidos pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1996).

De maneira geral, observa-se que as rotinas de controle, fundamentadas em metodologia por via úmida, se caracterizam por serem demoradas, dispendiosas e dissonantes em relação às novas diretrizes ambientais, característica esta que se relacionada com o uso de grandes quantidades de insumos corrosivos e de elevado potencial poluente (GELADI, 2003).

Para monitoramento da identidade e qualidade de queijo prato, classificado como queijo semigordo de média umidade (BRASIL, 1997c), há necessidade de se determinar o teor de umidade e gordura, utilizando-se rotinas de análise que consomem aproximadamente 15 h e que produzem resíduos contendo ácido sulfúrico e álcool isoamílico.

### 2.1.3.2 Controle da maturação de queijos

Entende-se por maturação de um queijo todas as mudanças bioquímicas (glicólise, lipólise e proteólise), que ocorrem após sua produção e que lhe conferem sabor, aroma, textura e aparência características (FARKEY e FOX, 1990; SOUZA, 1960; WALSTRA *et al.*, 1999). Durante a sua fabricação e até o final da sua validade, o queijo sofre inúmeras transformações físico-químicas, as quais são decisivas para o corpo (consistência) e textura (estrutura) do produto, afetando também o sabor e o aroma.

Uma destas transformações consiste na degradação de proteínas (proteólise) (FOX e MCSWEENEY, 1998; WALSTRA *et al.*, 1999; WOLFSCHOON-POMBO, 1983), o que é considerado o fenômeno mais importante durante a maturação dos queijos.

Durante a proteólise, as proteínas (caseínas) são inicialmente degradadas a grandes peptídeos, os quais são posteriormente degradados a pequenos peptídeos e, finalmente, a aminoácidos livres (Figura 3). Os aminoácidos podem ser catabolizados por desaminação ou descarboxilação. A desaminação leva a formação de ácidos carboxílicos e amônia, os quais podem ser resultantes de diferentes vias metabólicas. A descarboxilação gera CO<sub>2</sub> e aminas, e seguindo o caminho inverso, podem ser degradadas por alguns microrganismos (PRIETO *et al.*, 2004).

A proteólise é um parâmetro usado como indicador de maturação (BALDINI, 1998; FARKEY e FOX, 1990), podendo ser expressa através dos índices de extensão da proteólise (IEP), indicando a porcentagem de moléculas de proteínas que é decomposta predominantemente em grandes peptídeos, e de profundidade da proteólise (IPP), que indica a porcentagem de degradação dos grandes peptídeos (WALSTRA *et al.*, 1999; WOLFSCHOON-POMBO, 1983).

As mudanças na textura do queijo ocorrem devido à degradação da matriz protéica, diminuindo a atividade de água pelo aumento da quantidade de água ligada, decorrente da liberação de grupos carboxila e amino e do aumento no pH, o que favorece a percepção de componentes responsáveis pelo sabor durante a mastigação (FOX, 1988; SOUZA; ARDO ; MCSWEENEY, 2001).

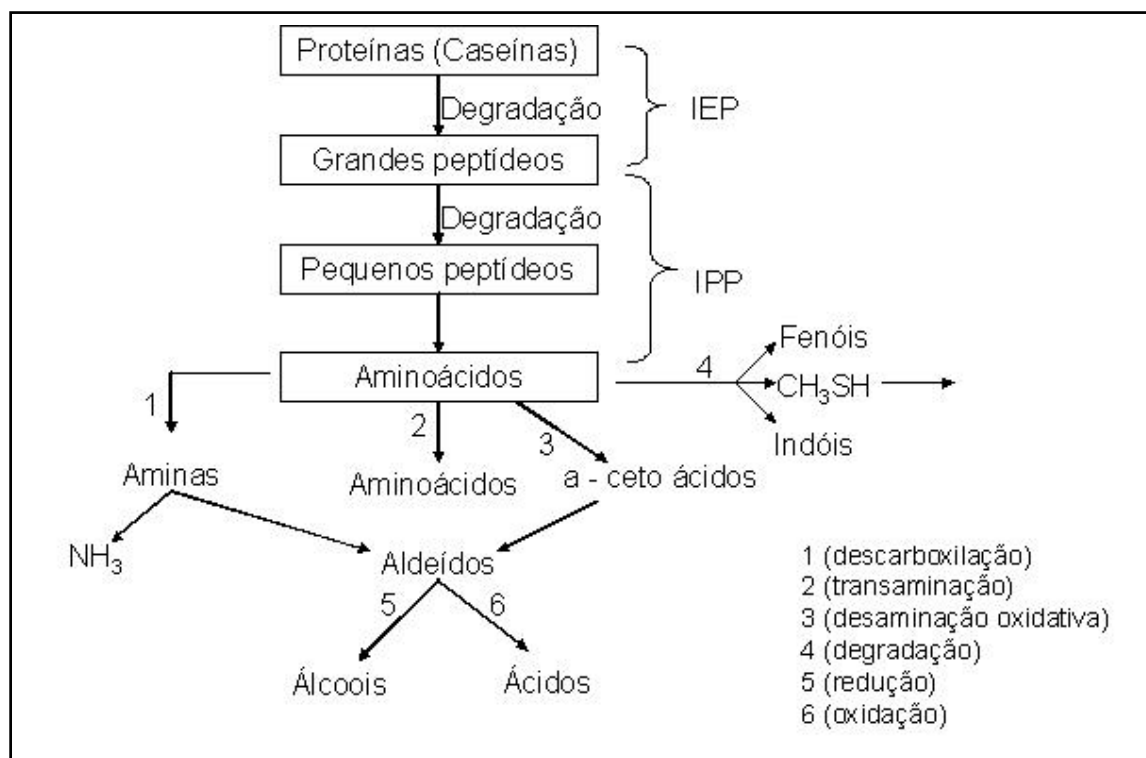


FIGURA 3 - DIAGRAMA REPRESENTATIVO DA PROTEÓLISE EM QUEIJOS  
 FONTE: Adaptado de Perry (2004)

A proteólise contribui diretamente para formação de sabores agradáveis e desagradáveis dos queijos, devido à formação de peptídeos e aminoácidos livres, bem como pela liberação de substratos (aminoácidos) para mudanças catabólicas secundárias. Isto é, transaminação, desaminação, descarboxilação, desulfuração, catabolismo de aminoácidos aromáticos e reações de aminoácidos com outros componentes (SOUZA; ARDO ; MCSWEENEY, 2001).

A proteólise ocorre por ação de enzimas de numerosas fontes, principalmente as residuais do coalho e as naturais do leite. As enzimas do fermento láctico e as produzidas por bactérias lácticas são constituintes do fermento láctico adicionado (FOX, 1988; FOX e MCSWEENEY, 1998; MORENO *et al.*, 2002; WOLFSCHOON-POMBO e LIMA, 1989). Embora influencie significativamente a textura, sabor e aroma do queijo prato, ainda existem poucas informações sobre o efeito do tipo de coalho no processo inicial de proteólise e o dos diversos fermentos lácticos sobre o índice de proteólise e lipólise do queijo prato no final da maturação.

Para a maioria dos queijos duros e semiduros, a proteólise é comumente usada como índice de maturação. Para isto, diversas frações nitrogenadas são previamente separadas e quantificadas pela técnica tradicional (Kjedahl) ou por métodos espectrofotométricos. Métodos cromatográficos e eletroforéticos também são freqüentemente usados para caracterizar os peptídeos formados durante a maturação (FARKEY e FOX, 1990).

Segundo Wolfschoon-Pombo e Lima (1989), a atividade proteolítica em queijos pode ser avaliada por meio dos índices de extensão da proteólise (IEP) e de profundidade da proteólise (IPP). A extensão da proteólise, também conhecida como índice de maturação, se caracteriza pela quantidade de substâncias nitrogenadas solúveis acumuladas durante o processo de maturação, sendo expressa como porcentagem do nitrogênio total. A sua determinação se fundamenta na precipitação isoelétrica da caseína a pH 4,6 e na quantificação das substâncias solúveis usando o método de Kjedahl (WOLFSCHOON-POMBO, 1983).

O IEP é um fator de grande importância na composição final e nas características sensoriais do produto, estabelecendo o momento ideal de lançamento do produto no mercado (BALDINI, 1998). Este índice aumenta durante a maturação, com valores típicos de 4,2% (2 dias de maturação); 7,7% (15 dias); 14,5% (30 dias) e 23,3% (90 dias) (ROGICK, 1951)

Pesquisas realizadas por Wolfschoon-Pombo (1983) revelaram IEP de 5,1% a 8,2% em queijo prato com 4 dias de maturação e de 11,9 a 14,0 em queijos com 30 dias. Vieira e Neves (1980) produziram queijos prato que apresentaram com 1 dia de fabricação IEP ao redor de 5,5% e com 30 dias IEP em 12,5%. Baldini (1998) analisou a maturação de queijos prato por 40 dias e obteve os seguintes IEP: 6,84% (1 dia de maturação); 8,97% (7 dias); 10,92% (14 dias); 12,40% (21 dias); 12,78% (28 dias) e 13,89 (40 dias).

A profundidade da proteólise abrange as substâncias nitrogenadas de baixo peso molecular acumuladas durante o processo, como os aminoácidos, oligopeptídeos e aminas. A profundidade pode ser quantificada pelo teor em nitrogênio não protéico (teor de substâncias de baixo peso molecular) que se precipitam na presença de ácido tricloroacético (WOLFSCHOON-POMBO, 1983). Baldini (1998) analisou a maturação de queijos prato por 40 dias e obteve os seguintes IPP: 2,70% (1 dia de maturação); 4,18% (7 dias); 5,03% (14 dias); 5,65% (21 dias); 6,57% (28 dias) e 7,26% (40 dias).

Além da proteólise, durante o processo de maturação ocorre também a lipólise, onde as enzimas lipolíticas (lipases) presentes nos queijos são responsáveis pela degradação da fração lipídica, liberando ácidos graxos livres, os quais são componentes importantes no desenvolvimento do aroma em queijos maturados (SCOTT, 1986). Quando não adicionadas durante o processo de fabricação, a lipase microbiana é a principal responsável pela hidrólise dos ácidos graxos durante a maturação, pois a lipase oriunda do leite é inativada no processo de pasteurização (RENNER, 1987).

De acordo com Scott (1986), embora o aroma desenvolvido nos queijos maturados seja uma mistura química extremamente complexa, são os ácidos graxos de cadeias curtas que mais contribuem na sua formação: ácido butírico ( $C_4$ ), capróico ( $C_6$ ), caprílico ( $C_8$ ), cáprico ( $C_{10}$ ), láurico ( $C_{12}$ ), e mirístico ( $C_{14}$ ). Todos estes ácidos graxos de cadeias curtas podem dar origem a compostos mais simples como as cetonas, as quais representam um dos principais componentes do aroma em queijos maturados.

A identificação e quantificação dos ácidos graxos livres voláteis originados durante o processo de maturação por ação da lipase microbiana podem ser realizadas por cromatografia em fase gasosa. Segundo Bonassi (1978), os ácidos graxos liberados durante a maturação, que contribuem para a formação do aroma de queijo prato, foram quantificados, após 60 dias de maturação, com concentrações (mg/100 g de queijo) de ácido acético (75,2), butírico (41,4), ácido capróico (20,1), ácido propiônico (2,5) e isovalérico (1,3).

## 2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

A espectroscopia no infravermelho compreende a radiação no intervalo de aproximadamente 12800 a  $10\text{ cm}^{-1}$ , sendo comumente dividida em infravermelho próximo (12800 a  $4000\text{ cm}^{-1}$ ), médio ( $4000$  a  $200\text{ cm}^{-1}$ ) e distante ( $200$  a  $10\text{ cm}^{-1}$ ). Os métodos quantitativos no infravermelho diferem de outros métodos espectroscópicos, devido à maior complexidade do sinal espectral, e às limitações instrumentais dos aparelhos de medição (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

A aplicação da espectroscopia no infravermelho, como técnica de análise quantitativa, teve um grande crescimento com o advento da transformada de Fourier e a utilização do interferômetro de Michelson (KALASINSKY, 1990 e COATES, 1998), tornando o método mais rápido e robusto. Nas últimas décadas, essa técnica tem sido utilizada para análise de uma diversidade de amostras, incluindo polímeros, microrganismos, sementes, manuscritos, tecidos cancerosos e outros (SMITH, 2000).

A análise por FTIR com detector fotoacústico foi utilizada para identificar e diferenciar microrganismos, bactérias (*Lactobacillus casei*, *Bacillus cereus* e *Escherichia coli*), leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*), e fungos (*Aspergillus niger* e *Fusarium verticillioides*) na superfície de maçãs. O método demonstrou bom potencial para avaliação da segurança alimentar (IRUDAYARAJ; YANG; SAKHAMUR, 2002). Esta técnica foi também utilizada no estudo de filmes de amido, proteína e polietileno com resultados que confirmam a sua utilidade em rotinas de controle de embalagens alimentícias (IRUDAYARAJ e YANG, 2002).

Um método analítico com espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR) foi utilizado com sucesso para monitorar a atividade enzimática em superfícies de filmes de amido e triacilgliceróis no infravermelho médio, na amplitude de 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  (SNABE e PETERSEN, 2002).

Moreno *et al.* (1999 a e b) descreveram a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier como técnica rápida e precisa para avaliação da degradação térmica de lipídios. Nessa pesquisa foi realizada a avaliação química da degradação de ácidos graxos poliinsaturados durante a oxidação térmica de óleos comestíveis, verificando-se que a metodologia permite a determinação do percentual de componentes insaturados nas amostras em diferentes temperaturas de aquecimento, sem preparo prévio da amostra.

A espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi descrita como uma técnica rápida, não destrutiva e promissora por Vannini; Baldi e Lanciotti (2001), no estudo do monitoramento de mudanças físico-químicas na investigação da estrutura de proteínas secundárias em solução aquosa e suas alterações em consequência da atividade proteolítica microbiana na maturação de queijos.

Um avanço nas metodologias de caracterização estrutural de biopolímeros foi demonstrado nos resultados da pesquisa de kavanagh; Clark e Ross-Murphy (2000), que utilizaram FTIR e outras técnicas no estudo de gelificação de proteínas globulares por aquecimento, monitorando estrutura da  $\beta$ -Lactoglobulina na formação de géis em baixo pH. Os espectros obtidos por esta técnica de infravermelho esclareceram as diferentes fases estruturais destes biopolímeros em diferentes temperaturas e pH.

A técnica FTIR e outras técnicas analíticas foram utilizadas por Uesu; Pineda; Hechenleitne (2000) na caracterização estrutural de celulose microcristalina (MCC), importante produto da indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, preparada da casca de soja, produzida em larga escala na indústria de óleo de soja.

Demiate *et al.* (2000) determinaram a correlação entre a estrutura química de amido e amido modificado de mandioca utilizando espectroscopia FTIR associada à quimiometria. O modelo obteve sucesso com previsão dos valores de expansão do amido obtidos pela regressão dos mínimos quadrados parciais dos dados espectrais do FTIR. Os resultados qualitativos e quantitativos da análise espectral demonstraram a presença de grupos carboxilados, bem como mudanças que são essenciais nas propriedades do amido após o cozimento.

Estudos de caracterização de amido modificado não-alimentício destinado a diversas finalidades foram realizados por Wesslén e Wesslén (2002), por FTIR. Os resultados reproduziram aqueles encontrados na metodologia NMR.

Mu e Feng (2002) empregaram FTIR e outras técnicas para caracterizar nanoesferas utilizadas na área farmacêutica fabricadas em diferentes condições, tamanhos, superfícies morfológicas, propriedades térmicas e superfícies químicas. Esta técnica confirmou a presença de grupos funcionais e material polimérico na superfície das nanoesferas.

Adhikari; Balasubramaniam; Abbott (2003) desenvolveram um método para determinação de oxidação lipídica e compostos sulforosos em matrizes alimentares, utilizando FTIR. O método FTIR foi validado por comparação com o método utilizando cromatografia gasosa, determinando-se o teor de hexanal. As vantagens foram a velocidade dos testes, e o ganho de qualidade na rotina do controle de qualidade.

As análises utilizando FTIR por transmitância na pesquisa da velocidade de reticulação ou velocidade de esterificação de derivados celulósicos para produtos

alimentícios apresentaram vantagens sobre as técnicas titulométricas (COMA *et al.*, 2003).

O estudo de mudanças de conformação de proteínas tem sido realizado com vários métodos espectroscópicos de absorção, fluorescência e infravermelho (LULLIEN-PELLERIN e BALNY, 2002).

Lefèvre e Subirade (2001) caracterizaram o uso de espectroscopia no infravermelho como uma poderosa e versátil ferramenta para determinar a estrutura de biomoléculas, como as proteínas do leite, e consideraram que existe a necessidade de maiores investigações desta técnica em virtude do grande potencial de aplicação em biopolímeros alimentares.

A espectroscopia no infravermelho (IR) é descrita com uma poderosa técnica analítica na indústria (VAN de VOORT, 1992), utilizada para medir parâmetros da qualidade de óleo (VAN de VOORT, 1992 e DUBOIS *et al.*, 1996). Che Man e Moh (1998) empregaram a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) na determinação de ácidos graxos livres voláteis. Mcqueen *et al.*, (1995) utilizaram FTIR na determinação da composição química de queijos e Che Man e Setiowaty (1999) na determinação de ácidos livres voláteis em óleo de palma.

Além de permitir a análise de uma grande variedade de matrizes e o controle de um grande número de parâmetros, a técnica FTIR se apresenta rápida, precisa e segura, sem os riscos associados à utilização de produtos químicos (WOJCIECHOWSKI *et al.*, 1998; MORENO *et al.*, 1999b; SANSAL e SOMER, 1999; VANNINI, 2001), apresentando potencial para aplicação em rotinas de controle de qualidade (ADHIKARI; BALASUBRAMANIAM; ABBOTT, 2003), caracterização de substâncias húmicas (AMIR *et al.*, 2004), monitoramento de metabólitos resultantes da decomposição da matéria orgânica (SMIDT e MEISSEL, 2006), avaliação grau de estabilidade da matéria orgânica de efluentes da indústria de azeite de oliva (EL HAJJOUJI *et al.*, 2008).

#### 2.2.1 Espectroscopia por Reflexão Difusa no Infravermelho com Transformada de Fourier (DRIFTS)

A técnica de aquisição de sinais utilizando espectroscopia no infravermelho associada à reflexão difusa com acessórios acoplados aos espectrômetros



interferométricos com transformada de Fourier passou a ser conhecida pela sigla DRIFTS, “Diffuse Reflection Infrared Fourier Transform Spectroscopy” (espectroscopia por refletância difusa com transformada de Fourier), no final dos anos 1970 e início dos 1980 (WILSON e TAPP, 1999).

Na refletância difusa, parte da radiação incidente penetra na superfície de uma matriz descontínua, sofrendo reflexão logo abaixo da superfície. Essa radiação refletida no interior da amostra tende a seguir um caminho estatisticamente provável, devido a múltiplas reflexões. Em geral, a radiação incidente entra em contato milhares de vezes com as partículas da amostra e é severamente atenuada, perdendo energia. A radiação que deixa a amostra fornece informações qualitativas e quantitativas nos dados espectrais que são armazenadas em arquivos eletrônicos, conforme ilustrado na Figura 4 (WETZEL, 1983, VENDLANT e HETCH, 1966 *apud in* MELLO, 1998, OSBORNE, 2006).

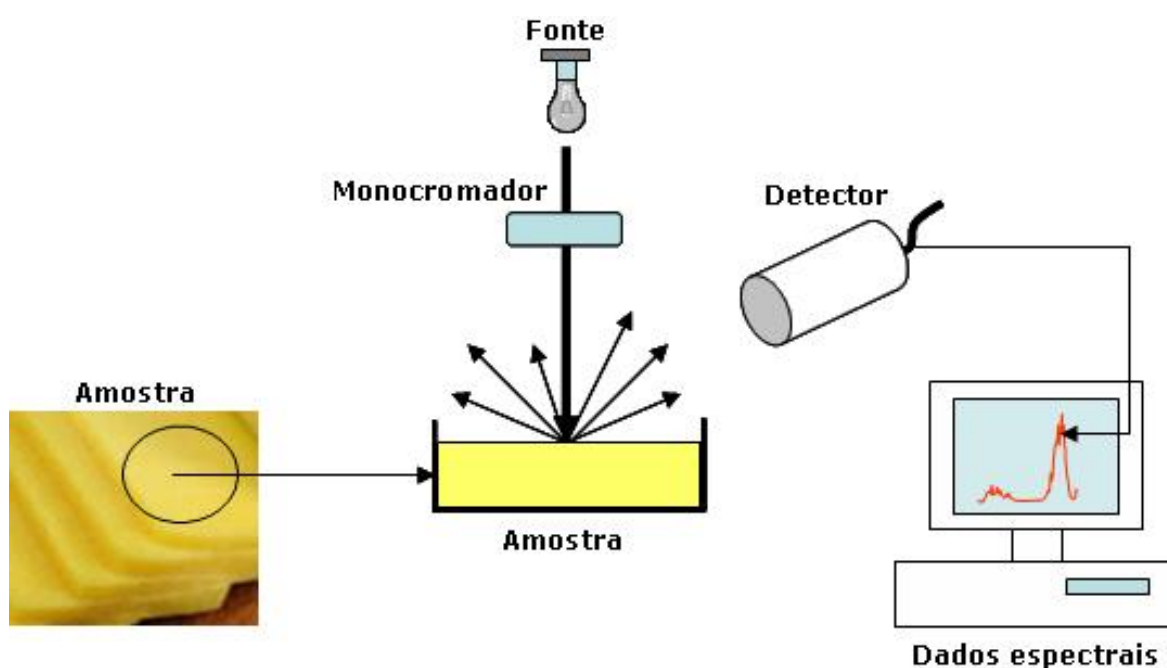


FIGURA 4 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA REFLEXÃO DIFUSA NA AQUISIÇÃO DE ESPECTROS DE QUEIJO PRATO  
 FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

No desenvolvimento de um experimento com reflexão difusa, também será observada a reflexão especular, que ocorre quando a energia incidente interage com pequeno número de moléculas da superfície e o feixe refletido praticamente não é atenuado, possuindo intensidade muito próxima da radiação incidente. A interação mais importante é aquela que ocorre na interface ar/superfície da matriz, mas também ocorrendo nas faces das partículas, mas cujo efeito pode ser minimizado pela redução do tamanho da partícula. A reflexão especular é mais intensa na região em que a amostra apresenta forte absorção e neste caso podem ocorrer distorções no espectro obtido (FERRÃO *et al.*, 2004).

As distorções decorrentes da reflexão especular são pouco perceptíveis em espectros obtidos no infravermelho próximo, enquanto que, no infravermelho médio as distorções são mais freqüentes (SABIN; FERRÃO; FURTADO, 2004). Uma alternativa de minimizar esse efeito não desejado seria a diluição da amostra em matriz não absorvente, como KBr (OLINGER e GRIFFITHS, 1983a e OLINGER e GRIFFITHS, 1983b apud in SABIN; FERRÃO; FURTADO, 2004).

Entretanto, Reeves (2003) verificou em sua pesquisa que não há necessidade de diluição da amostra com KBr ou outros compostos para obter bons resultados quantitativos. A ocorrência de distorções, pelo efeito da reflexão especular nos espectros obtidos com amostras diluídas é similar aos obtidos com amostras puras e podem variar em intensidade e localização no espectro de acordo com o tipo de amostra, sendo que o processamento via PLS, na maioria dos casos é capaz de modelar dando ênfase às regiões onde não ocorre reflexão especular, deixando o uso das regiões distorcidas para pequenos ajustes no modelo, resultando em boa análise. Destacou ainda que o uso de amostras puras, em geral, apresenta um espectro melhor para um mesmo número de varreduras, reduzindo possíveis diferenças ocasionadas na falta homogeneidade em caso de diluição.

A técnica DRIFTS tem sido utilizada em diversas áreas de conhecimento com objetivo de estabelecer métodos não invasivos, na discriminação de queijos macios durante o processo de maturação (KAROUI *et al.*, 2006), na discriminação da origem e na previsão da concentração de princípios ativos em vegetais (WANG; LEE; WANG, 2007), no monitoramento das modificações físico-químicas da matéria húmica em solos (ADANI *et al.*, 2007).

## 2.3 QUIMIOMETRIA

Uma das características mais interessantes dos instrumentos modernos é o número das variáveis que podem ser medidas em uma única amostra. Podem existir registros de intensidades de absorção em mil ou mais comprimentos de onda em um único espectro. Para tratar e processar informações relevantes dessa quantidade de dados, houve a necessidade de implementação de ferramentas novas e sofisticadas. Assim, ocorreu um grande crescimento nesta área, dando origem à Quimiometria, que é uma área especificamente destinada à análise de dados químicos de natureza multivariada (FERREIRA *et al.*, 1999).

O surgimento da Quimiometria ocorreu principalmente em função da estatística convencional não ser mais suficiente para descrever e modelar os resultados de um grande número de dados gerados nas análises químicas (GELADI, 2003). Foi introduzida nas décadas de 1960 e 1970, principalmente na Química Analítica, sofrendo grande evolução e utilização, devido principalmente à introdução de equipamentos que oferecem respostas contendo muitas variáveis, maior disponibilidade de computadores e de disciplinas específicas sobre o assunto (GELADI e ESBENSEN, 1990a e GELADI e ESBENSEN, 1990 b).

No Brasil as atividades relacionadas a Quimiometria somam mais que vinte e cinco anos e são caracterizadas por três fases distintas, a primeira antes de existência de micro computadores na década de 70, a segunda na década de 80 marcada pela utilização de microcomputadores, e a terceira nos anos 90 destacando-se pela intensificação das aplicações utilizando os microcomputadores, seguindo-se até a presente data. Nesse percurso houve ênfase tanto na indústria quanto na universidade em diversos segmentos, abrangendo desde a calibração multivariada ate novas tendências no tratamento de dados (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2006).

Desde a sua criação, a calibração multivariada sobrepujou os limites da estatística convencional univariada, utilizando métodos derivados da matemática, estatística e ciência da computação. É uma área caracterizada pela constante evolução e atualização (GELADI, 2002) e que sofreu grande evolução na década de 1980, iniciando o uso de metodologias aplicadas em modelos com dados experimentais (MORGAN, 1991, DEMING e MORGAN, 1993, MEYERS e

MONTGOMERY, 1995; CARLSON, 1992 e LEWIS; MATHIEU; PHAN-TAN-LUU, 1998).

A utilização da calibração multivariada em Química Analítica instrumental conduziu ao uso analítico com aplicação industrial, desta forma, a Quimiometria se expandiu e se estabeleceu como área independente. No início houve uma ênfase maior na aplicação de técnicas de discriminação de dados (GELADI, 2003), como por exemplo, a análise de componentes principais (PCA), a qual tem a função de reduzir a dimensionalidade do espaço, revelando as variáveis ou combinações de variáveis com características inerentes aos dados originais permitindo a interpretação em termos químicos ou físico-químicos (WOLD; ESBENSEN; GELADI, 1987; BEEBE e KOWALSKI, 1987; MASSART, 1988).

Calibração é o procedimento utilizado para encontrar um algoritmo matemático que represente as propriedades de interesse a partir dos resultados registrados pelo instrumento (FERREIRA *et al.*, 1999). A calibração multivariada tem aplicação bem sucedida na combinação com técnicas espectrais, evidenciada em vários trabalhos clássicos (NAES *et al.*, 2002; MARTENS e MARTENS, 2000; BROWN, 1993; BEEBE; PELL; SCASHOLTZ, 1998; MARTENS e NAES, 1989).

O procedimento para construir um modelo de calibração consiste em estabelecer uma correlação entre a propriedade química, biológica ou física da amostra com seu espectro, seguindo uma extensão da lei de Beer, correlacionando absorvância e concentração, assim como nos modelos univariados.

Os modelos univariados usando o método dos mínimos quadrados, correlacionam variáveis dependentes X (resposta instrumental) e variáveis independentes Y (propriedades de interesse), tornam-se inviáveis quando a técnica analítica utilizada é a espectroscopia no infravermelho, a qual fornece informação do material em estudo (espectros), contendo grande número de variáveis dependentes altamente correlacionados com o número de variáveis independentes (características físico-químicas).

Os métodos de calibração mais adequados para esse tipo de análise são os multivariados, sendo vários deles discutidos na literatura, como o método de regressão por peso localizado (LWR), regressão sequencial (RR), regressão de componentes principais (PCR), regressão dos mínimos quadrados parciais (PLSR) (VIGNEAU; QANNARI; BERTRA, 2002 e FEUDALE *et al.*, 2002), sendo o PCR e o PLSR, os mais utilizados (GELADI, 2002).

O uso de métodos de calibração multivariada PLS são utilizados em diferentes áreas, associados a espectroscopia no infravermelho com reflectância difusa para prever a composição de madeira (JONES *et al.*, 2006), características do cabelo humana (MIYAMAE; YAMAKAWA; OZAKI, 2007).

A análise multivariada é utilizada na área de alimentos, destacando aplicações relacionadas com autenticidade de vinhos (ARVANITOYANNIS *et al.*, 1999), identificação de variedades de vinhos (KARÁSEK *et al.*, 2003), análise sensorial em leite (FRØST, DIJKSTERHUIS; MARTENS, 2001), caracterização de soja comercial (GARCÍA; TORRE; MARINA, 2000), refeições “light” (ÔUNPUU; WOOLCOTT; GREENE, 2000), aminas aromáticas em alimentos (HATCH *et al.*, 1992), caracterização de queijos (ADAMOPOULOS; GOULA; PETROPAKIS, 2001), caracterização sensorial e de textura de queijo cheddar (TRUONG *et al.*, 2002), correlação química e sensorial de queijo parmigiano-reggiano (VIRGILI *et al.*, 1994).

### 2.3.1 Pré-processamento dos dados

O pré-processamento de dados é a fase após a construção das matrizes e que antecede os processamentos das análises de PCA, PLSR ou outro método multivariado. Os mais conhecidos e utilizados no presente trabalho, são: dados centrados na média, alisamento por média móvel, cálculo de derivada, correção do espalhamento multiplicativo e autoescalamento.

#### 2.3.1.1 Dados centrados na média (CM)

A operação centrar na média é um tipo de normalização onde as variáveis passam a possuir magnitudes semelhantes com relação a um espectro médio (Figura 5). A operação de cálculo consiste em obter um espectro médio ( $\bar{x}$ ) a partir dos dados originais ( $x$ ) e realizar uma subtração dos valores ( $x - \bar{x}$ ), obtendo-se os dados processados ( $x_p$ ) (FERREIRA *et al.*, 1999).

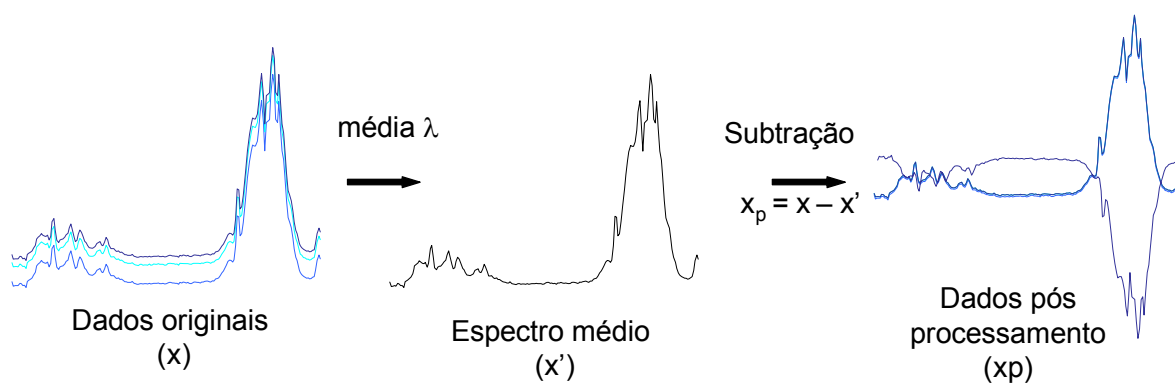


FIGURA 5 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO CENTRAR NA MÉDIA EM ESPECTROS NIR  
 FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

### 2.3.1.2 Cálculo de primeira derivada

Quando aplicada a dados espectrais, o cálculo de primeira derivada provoca significativas mudanças na informação processada (Figura 6), podendo apresentar um efeito positivo, ao evidenciar um sinal de analítico de interesse, ou negativo, ao evidenciar ruído instrumental.



FIGURA 6 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE CÁLCULO DE PRIMEIRA DERIVADA EM ESPECTROS NIR  
 FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

### 2.3.1.3 Alisamento por média móvel (filtro digital – “Smoothing”)

A aplicação de técnicas de alisamento tem por objetivo reduzir matematicamente o ruído aleatório que acompanha o sinal analítico. Com este objetivo, muitos procedimentos têm sido propostos; entretanto, o sistema fundamentado em ajuste polinomial móvel, como o de Savitzki-Golay, é um dos utilizados com maior frequência (APARÍCIO, 2002).

A técnica de alisamento, representada na Figura 7, é fundamentada no cálculo de uma média móvel. Neste procedimento, os dados espectrais são separados em grupos contendo um número fixo de elementos (janela), a partir dos quais é calculado o valor médio. Posteriormente, os valores médios são ajustados a um modelo polinomial, utilizando-se aproximação por mínimos quadrados (RUFINO, 2004). Com este procedimento, os ruídos são reduzidos aproximadamente pela raiz quadrada do número de pontos utilizados (BROAD *et al.*, 2001).

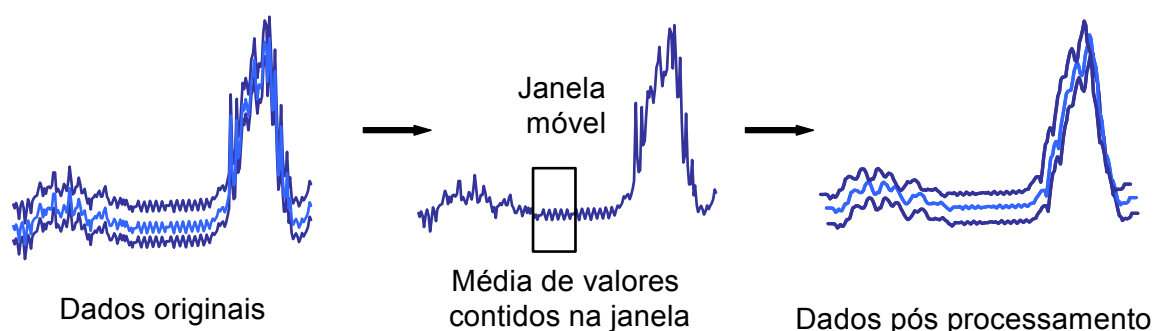


FIGURA 7 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE ALISAMENTO EM PESPECTROS NIR  
FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

### 2.3.1.4 Correção do espalhamento multiplicativo (MSC)

A correção do espalhamento multiplicativo (MSC) visa corrigir irregularidades nos espectros DRIFTS relacionados ao espalhamento de luz provocado por

irregularidades em amostras sólidas. O processo (Figura 8) envolve o cálculo de um espectro médio (espectro de referência,  $x'$ ) e o estabelecimento de uma correlação com os dados originais. Obtendo-se a equação  $x = a + bx' + e$ , é possível corrigir os valores experimentais para obtenção dos dados pós processamento ( $x_p$ ), realizando-se a operação  $x_p = (x - a)/b$ , para cada um dos espectros processados (MARTENS e NAES, 1989).

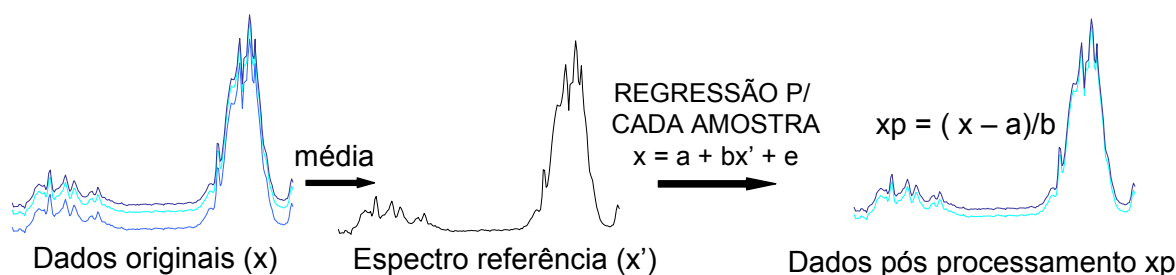


FIGURA 8 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE MSC EM PESPECTROS NIR

FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

#### 2.3.1.5 Autoescalamento (AU)

A operação autoescalar é um tipo de normalização onde as variáveis passam a possuir magnitudes semelhantes em relação a um espectro médio e ao desvio padrão (DP), resultando em alteração significativa na dimensão do espectro final em relação ao original (Figura 9). A operação de cálculo consiste em obter um espectro médio ( $x'$ ) e o desvio padrão (DP) a partir dos dados originais ( $x$ ) e realizar uma subtração dos valores ( $x - x'$ ), dividindo-se por DP, obtendo-se os dados pós processados  $x_p$  (FERREIRA *et al.*, 1999).



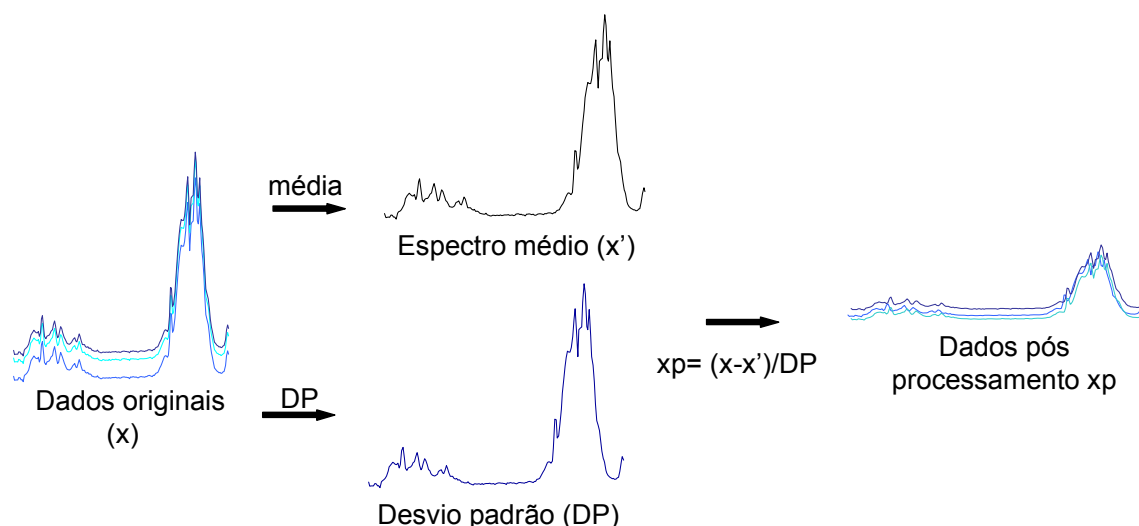


FIGURA 9 - ESQUEMA REPRESENTATIVO DA APLICAÇÃO DE PRÉ-PROCESSAMENTO AUTOESCALAMENTO EM ESPECTROS NIR  
FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

### 2.3.2 Análise de Componentes Principais (PCA)

A análise de componentes principais (PCA) é um método de discriminação de dados que tem por objetivo reduzir sua dimensionalidade, com possibilidade de utilização das informações, com ou sem pré-processamento, para fazer uma verificação inicial de sua homogeneidade. O processamento de PCA mais comum é a projeção linear que maximiza a variância projetada no espaço (MARTENS e NAES, 1989, WANG e PALIWAL, 2003).

Os dados utilizados na análise podem ser valores obtidos de parâmetros avaliados ou de respostas instrumentais (espectros), os quais devem ser dispostos na forma de matriz. Uma representação de formação de matriz com dados espectrais obtidos no infravermelho na região NIR e com dimensões de 21 x 1750 é apresentada na Figura 10.

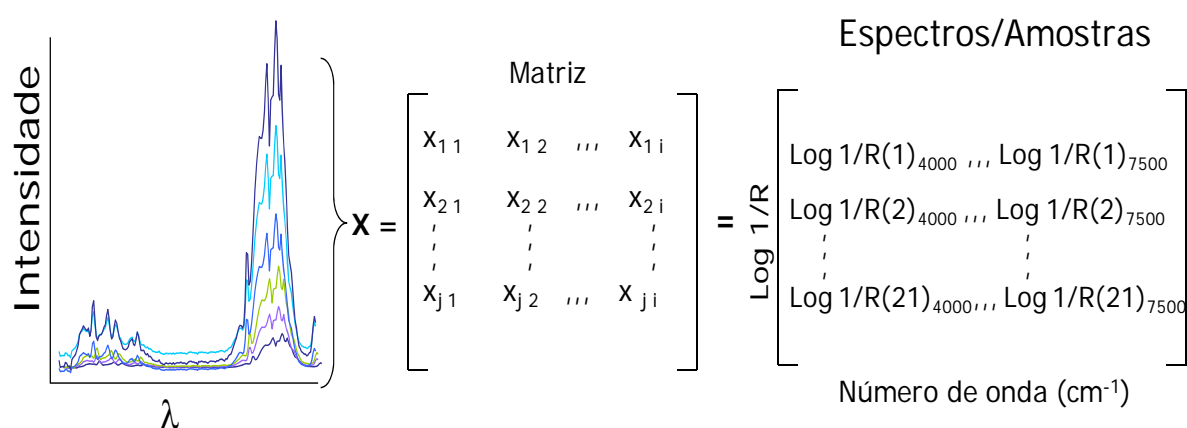


FIGURA 10 - ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ  $X$  DE ESPECTROS NIR (4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ ) PARA ANÁLISE DE MULTIVARIADA

FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

No processamento, ocorre a projeção dos dados dessa matriz contendo as variáveis originais, formando as novas componentes. Uma representação esquemática de decomposição de matriz espectral com dimensões de 21 x 1750 (amostras x intensidade) é apresentada na Figura 11.

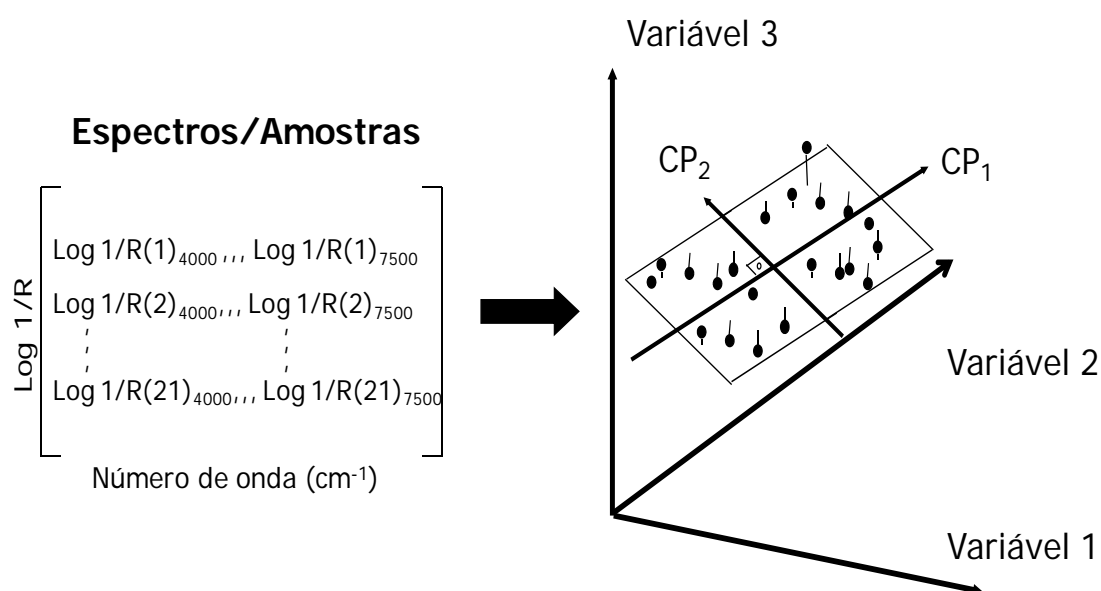


FIGURA 11 - ESQUEMA DA PROJEÇÃO DE DADOS DE UMA MATRIZ DE ESPECTROS NIR (4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ ) EM NOVAS COMPONENTES NA ANÁLISE DE PCA

FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

A primeira componente (CP1) é definida pela direção que descreve a máxima variância dos dados originais. A segunda componente (CP2) tem a direção de máxima variância dos dados no subespaço ortogonal à CP1, e as CP subseqüentes são ortogonais às anteriores e orientadas de tal maneira que descrevam sempre a máxima variância restante. Pela própria maneira como estas novas variáveis são definidas, é possível descrever quase toda a informação contida nos dados originais utilizando poucas CP. Isso permite representar as amostras usando um espaço cuja dimensão  $A$  é bem reduzida se comparada à dimensão do espaço que descreve os dados originais. Uma vez definidas as CP, os dados originais são projetados neste novo sistema de eixos. Por isto, o método PCA é conhecido como um método de projeção, pois as amostras são projetadas em um espaço de dimensão menor (CORREIA e FERREIRA, 2007).

Considerando a operação matemática, a matriz dos dados originais ou pré-processados,  $X(x_j)$  é inicialmente decomposta em dois vetores, um de escores  $t_1$  e um de pesos (“loadings”)  $l_1$  como mostrado na Equação 1.

$$[X] = [t_1][l_1^T] + [E_1] \quad (1)$$

O vetor  $t_1$  é formado pelas coordenadas de cada amostra na primeira nova variável (CP1) enquanto a coluna  $l_1$  contém a informação do quanto cada variável original contribuiu (seu peso) na formação da primeira CP (CP1). Os pesos podem variar entre +1 e -1 e são os co-senos dos ângulos entre CP1 e os eixos das variáveis originais. Valores elevados para os pesos indicam altas correlações, sendo que o ângulo entre CP1 e a variável original é pequeno.  $E_1$  é a matriz de resíduos que contém toda a informação original que não foi descrita por CP1. Esta matriz ( $E_1$ ) será utilizada para calcular a segunda CP (CP2), conforme mostrado na Equação 2. Ao utilizar a matriz de resíduos para o cálculo da próxima CP evidencia-se uma importante propriedade das CP, que consiste na sua ortogonalidade (complementaridade).

$$[E_1] = [t_2][l_2^T] + [E_2] \quad (2)$$

Como mencionado anteriormente,  $A$  é o número de CP necessário para descrever as informações relevantes do conjunto de dados e  $EA$  é a matriz de resíduos final. Usando como exemplo a matriz representada na Figura 12, o número máximo de CP que podem ser calculadas é igual a 21, visto que esse é o menor

entre os seguintes valores que dimensionam a matriz  $\mathbf{X}$ :  $i=21$  e  $j=1750$ . A Equação 9 representa matematicamente a decomposição da matriz  $\mathbf{X}$  em A CP.

$$\mathbf{X} = \mathbf{T} * \mathbf{L}^T = \mathbf{T}_A * \mathbf{L}_A^T + \mathbf{E}_A \quad (3)$$

Onde,  $\mathbf{T}$  é a matriz de escores e  $\mathbf{L}$  é a matriz de pesos,  $\mathbf{T}_A = [t_1 \dots t_2]$  e  $\mathbf{L}_A = [l_1 \dots l_A]$ , Estas matrizes podem ser obtidas utilizando-se o algoritmo NIPALS (GELADI e KOWALSKI, 1986).

Outro ponto relevante na PCA diz respeito à quantidade de informação dos dados originais que cada uma dessas novas variáveis é capaz de descrever. Esta informação está contida nos escores. O produto  $t_1^T * t_1$  é igual à variância dos dados originais,  $\lambda_1$ , descrita pela primeira CP. Portanto, a quantidade de informação contida nesta CP é dada, na Equação 4, pela porcentagem de variância explicada (% var<sub>1</sub>), onde  $\lambda_k$  é  $t_k^T * t_k$ .

$$\% \text{ var}_1 = \lambda_1 / \left( \sum_{k=1}^6 \lambda_k \times 100 \right) = \lambda_1 / (\lambda_1 + \lambda_2 + \lambda_3 + \lambda_4 + \lambda_5 + \lambda_6) \times 100 \quad (4)$$

Supõe-se que a extração das características e a redução da dimensionalidade dos dados na PCA estão contidas no espaço da primeira componente principal (CP1), onde  $m$  (número de amostras) é menor que  $p$  (número de variáveis), em consequência cada vetor dos dados originais está representado pelo vetor da componente principal com a dimensionalidade  $m$  (LINDSAY, 2002).

A PCA é utilizada associada a diferentes técnicas analíticas nas mais diversas áreas de conhecimento, com diferentes finalidades, como na redução de dimensionalidade de dados em diagnósticos na área da Saúde (POLAT e GÜNES, 2007, 2008), no controle do processo de fermentação em bebidas (URTUBIA *et al.*, 2007), na discriminação de pães no processo de estocagem em baixas temperaturas associado às propriedades físico-químicas (MANDALA; KARABELA; KOSTAROPOULOS, 2007), na separação de diferentes produtos a base de carne quanto à textura (PROBOLA e ZANDER, 2007), em análise sensorial (HUSSON; LÊ; PAÉS, 2007), dentre outras.

É utilizada também associada a outras técnicas estatísticas na área da educação (LEE, 2007) ou associada a técnicas que utilizam dados espectrais na previsão da textura de carne (PARK *et al.*, 2001), na avaliação da qualidade de carne suína quanto à cor (QIAO *et al.*, 2007) e na identificação de tomates transgênicos (XIE; YING; YING, 2007).

A técnica PCA pode ser processada em vários softwares hoje disponíveis, como MATLAB, e pode estar associada a diferentes recursos estatísticos. Quando aplicada ao controle de qualidade utiliza, em geral, elevado número de dados, envolve diferentes produtos que estão associados a  $n$  variáveis indicativas de qualidade. Desta forma, a PCA é usada para desenvolver as cartas de controles estatísticos multivariados, utilizando as ferramentas estatísticas  $T^2$  e  $Q$  para detectar alterações nas  $n$  variáveis simultaneamente com nível de confiabilidade (MACGREGOR, 1997).

O estatístico  $T^2$  foi utilizado para detectar falha no processamento de produtos químicos e contribui para sua identificação na análise de PCA, processando dados em ambiente MATLAB, obtidos em sistema “on line” na implementação do controle de qualidade industrial multivariado, indicando-se eficiente em detectar lotes anormais e ou falhas analíticas (CHIANG e COLEGROVE, 2007).

Um gráfico representativo da associação da análise de PCA com a análise estatística é apresentado na Figura 12 (WISE *et al.*, 2003), onde se observa que a variação de  $Q$  ocorre com as amostras fora do modelo e a variação de  $T^2$  ocorre entre as amostras e o centróide, ou seja, dentro do modelo (elipse). A CP1 descreve um vetor na direção da maior variação dos dados e a CP2 descreve um vetor na direção da menor variação dos dados e possui um eixo menor em relação a CP1 na elipse. Neste caso de análise de PCA, os vetores de escores e loadings das duas CP descrevem adequadamente a variação dos dados.

Considerando a associação à estatística, calcula-se o limite de confiança para os escores aplicando a distribuição  $t$  de “Student”, conforme a equação 5, onde  $m$  é o número de amostras e  $t_{m-1, \alpha/2}$  ao ponto da probabilidade (na superfície) de distribuição  $t$  com  $m-1$  graus de liberdade e área  $\alpha/2$ .

$$t_{i,\alpha} = \pm \sqrt{\lambda_i} * t_{m-1, \alpha/2} \quad (5)$$

É possível calcular o estatístico  $Q$  na análise de PCA por meio da soma dos quadrados de cada linha (amostra) de  $E$  (resíduo), conforme a equação 6, onde  $e_i$  é a  $i^{\text{th}}$  linha de  $E$ ,  $P_k$  é a matriz de  $k$  loadings na análise de PCA (onde cada vetor é a coluna de  $P_k$ ) e  $I$  é a matriz identidade de tamanho apropriado ( $n \times n$ ).  $Q$  indica como a amostra se comporta na análise de PCA, é uma medida da diferença entre uma amostra e sua projeção nas componentes de  $K$  obtidas na análise.

$$Q_i = e_i e_i^T = x_i(I - P_k P_k^T)x_i^T \quad (6)$$

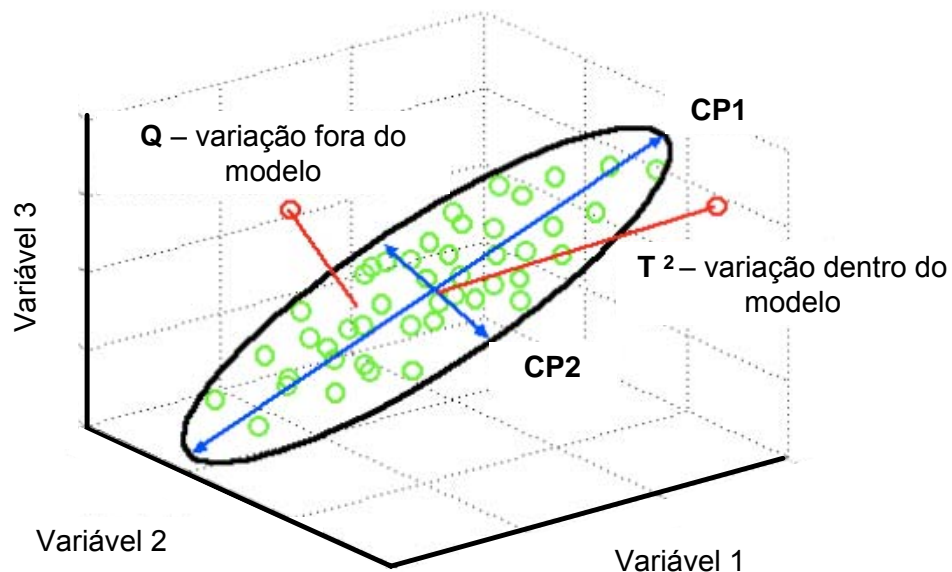


FIGURA 12 - REPRESENTAÇÃO DE COMPONENTES PRINCIPAIS DE ANÁLISE DE PCA ASSOCIADA COM ANÁLISE ESTATÍSTICA  
 FONTE: Wise *et al.*, (2003)

A soma dos quadrados normalizados dos scores é chamada de estatístico  $T^2$  (Hotelling's). E a variação da medida de cada amostra dentro dos limites do modelo, é definido conforme a equação 7, onde  $t_i$  refere-se a  $i^{\text{th}}$  linha de  $T_k$ , o vetor da matriz de escores na PCA e  $\lambda^{-1}$  é a matriz diagonal, contendo o inverso dos auto-valores associados com as CP na PCA.

$$T_i^2 = t_i \lambda^{-1} t_i^T = x_i P_{\lambda}^{-1} P^T x_i^T \quad (7)$$

### 2.3.3 Análise de Mínimos Quadrados Parciais (PLSR)

Quando o objetivo principal da análise de dados é fazer a previsão de uma variável dependente a partir de um grande número de variáveis independentes, a regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR) é um método indicado.

O PLSR é um método de regressão que permite a calibração utilizando padrão em diversos tipos de aplicações e em várias áreas do conhecimento, com grande utilização desde a década de 90. Têm semelhanças com os métodos PCR e MLR, ocupando um espaço intermediário entre eles (WOLD *et al.*, 1994; GELADI e KOWALSKI, 1986; LORBER; WANGEN; KOWALSKI, 1987; MARTENS e NAES, 1989; HÖSKULDSSON, 1996). No PCR, determinam-se fatores que capturam a maior quantidade de variação nas variáveis previstas; já no MLR, determina-se um fator único que melhor se correlaciona com as variáveis previstas, enquanto, no PLS, são obtidos fatores com as duas funções, a variância explicada e a correlação das variáveis. De forma que no PLS há maximização da covariância utilizando o algoritmo SIMPLS.

Para aplicação do método PLSR, o primeiro passo é construir as matrizes, neste caso, são duas matrizes, X e Y. Quando as matrizes X envolverem dados espectrais, deverão seguir o procedimento semelhante ao descrito na análise de PCA, conforme já apresentado na Figura 10. Quando as matrizes Y envolverem valores de parâmetros físico-químicos para análise multivariada individual (PLS1), a matriz será estruturada com os valores dispostos em uma coluna na matriz, chamada vetor, (Figura 13). Entretanto, quando a análise for simultânea (PLS2), a matriz será formada por valores dispostos em colunas conforme o número de parâmetros (Figura 14).

Amostras	Gordura (%)	Y =	
1	26,18	Vetor	Propriedade
2	26,94		
3	33,71		
4	28,76		
:	:		
16	27,72		

FIGURA 13 - ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ Y COM DADOS DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISE MULTIVARIADA INDIVIDUAL

FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

Amostras	Gordura (%)	Proteínas (%)		Matriz Y
1	26,18	23,74	Y=	$y_{1\ 1}$ $y_{1\ 2}$
2	26,94	23,71		$y_{2\ 1}$ $y_{2\ 2}$
3	33,71	27,72		$y_{3\ 1}$ $y_{3\ 2}$
4	28,76	26,49		$y_{4\ 1}$ $y_{4\ 2}$
:	:	:		$y_{: \ 1}$ $y_{: \ 2}$
16	27,72	25,77		$y_{16\ 1}$ $y_{16\ 2}$

FIGURA 14 - ESQUEMA DE MONTAGEM DE UMA MATRIZ Y COM DADOS DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS PARA ANÁLISE MULTIVARIADA SIMULTÂNEA

FONTE: Adaptado de Rohwedder (2006)

O PLSR é considerado um método com desenvolvimento matemático mais elaborado que a regressão de componentes principais (PCR) (BASTIEN; ESPOSITO-VINZI, TENENHAUS, 2005). Os dados são processados a semelhança da análise de PCA, já descrita no item 2.3.2, formando-se um novo sistema de eixos cartesianos a partir das variáveis X e Y (Figura 15), onde o vetor t substitui os vetores das variáveis X e o vetor u substitui os vetores das variáveis Y, onde, a CPy é uma função da CPx, ou seja, u é uma função de t. Cada nova componente formada é chamada de variável latente (VL) e carrega as variâncias das variáveis originais.

No primeiro passo da operação matemática, ocorre a decomposição da matriz, seguindo os modelos das equações 8 e 9:

$$X = TP + E \quad (8)$$

$$Y = UQ + F \quad (9)$$

Onde, T e U são as matrizes de escores e P e Q são as matrizes de loadings das matrizes de X e Y, e E e F são os resíduos do processo de regressão PLS.



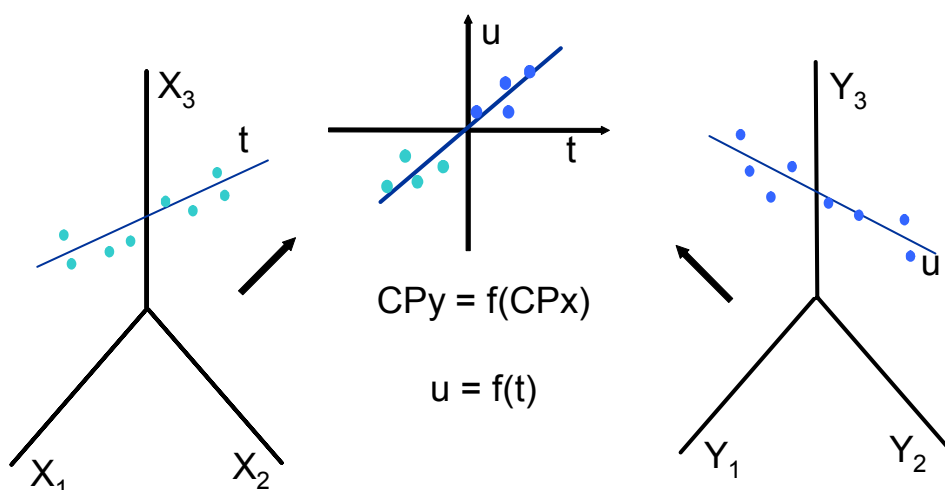


FIGURA 15 - ESQUEMA DA PROJEÇÃO DE DADOS DE UMA MATRIZ EM NOVAS COMPONENTES NA ANÁLISE DE PLSR  
FONTE: Rohwedder (2006)

Num segundo passo, T e U são processados por regressão linear, conforme a equação 10.

$$U = BT + E \quad (10)$$

O modelo é submetido a um processo de avaliação interna, chamado validação cruzada, onde ocorre a retirada de uma amostra de cada vez (“leave one out”) e os dados são processados, calculando-se o erro e assim sucessivamente para todas as amostras contidas na calibração. O valor do erro obtido, chamado PRESS, é a soma dos quadrados dos erros de previsão, calculado a partir do grau de concordância entre valor de referência ( $y_i$ ) e o valor estimado ( $\hat{y}_i$ ), conforme a equação 11.

$$\text{PRESS} = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (11)$$

De maneira similar, o RMSECV (raiz quadrada do erro quadrático médio de validação cruzada) é calculado a partir do grau de concordância entre valor de referência ( $y_i$ ) e o valor estimado ( $\hat{y}_i$ ), onde N corresponde ao número de amostras do modelo (equação 12). Ambos são utilizados para indicar a tendência do número

ótimo de variáveis latentes VL a serem utilizadas no modelo (DAGNEW; CROWE; SCHOENAU, 2001).

$$RMSECV = \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / N \right\}^{1/2} \quad (12)$$

O sistema de validação cruzada “leave one out” é um método adotado na validação de modelos de calibração para selecionar o número de variáveis latentes (VL) (SMILDE *et al.*, 2004 apud in SINGH *et al.*, 2007). Entretanto, A avaliação baseada somente na validação cruzada tem desvantagens porque tem a possibilidade de inclusão de um número de variáveis acima do ideal, levando a um superajuste do modelo. Ela pode falhar também ao não modelar a informação correspondente a pequenas variações nos dados, como exemplo em avaliações quantitativas ou sensoriais, ou na inclusão de novas informações, que são importantes para constituição de um modelo. Cada processo de modelagem apresentará então particularidades (XU e LIANG, 2001).

A interpretação por validação cruzada precisa ser cautelosa porque os erros podem estar relacionados a distorções nos espectros de amostras puras, e deve-se considerar que o PLSR compensa diferenças espectrais e encontra informação suficiente para calibração de diversos tipos de analitos com precisão (REEVES, 2003).

A capacidade preditiva dos modelos na calibração envolvendo todas as amostras é avaliada calculando-se o RMSEC (raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração) a partir do grau de concordância entre valor de referência ( $y_i$ ) e o valor estimado ( $\hat{y}_i$ ), e o N amostras utilizadas na calibração (equação 13).

$$RMSEC = \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / N \right\}^{1/2} \quad (13)$$

Após avaliação dos erros de calibração correspondente a cada variável latente realiza-se a detecção de amostras anômalas (“outliers”), fase complementar na verificação do conjunto de calibração na validação cruzada que visa assegurar que as amostras formam um conjunto homogêneo, fornecendo parâmetros para remover aquelas que fujam ao padrão estabelecido, seguindo-se com novo processamento dos dados. As duas grandezas utilizadas na detecção de amostras anômalas são a “Leverage” e os resíduos de “Student” (FERREIRA *et al.*, 1999).

A “Leverage” é uma medida que indica o grau de influência de uma amostra no conjunto da calibração. Casos em que as medidas experimentais de uma amostra

sejam muito diferentes das outras amostras podem influenciar negativamente o conjunto de calibração. Essa medida tem um valor limite que é equivalente a  $3VL/N$  (onde VL representa o número de variáveis latentes e N o número de amostras), portanto, amostras com valores acima desse padrão devem ser excluídas do conjunto de calibração.

Os resíduos de “Student” são constituídos pelo resíduo das concentrações e também medem a influência de uma amostra no conjunto de calibração, considerando uma distribuição com nível de confiança de 95%, aplicando-se o teste  $t$ , buscando valores dentro de um desvio padrão de  $\pm 2,5$ .

A fase final do processo de avaliação da performance do modelo de calibração é a verificação da capacidade preditiva dos modelos no processo de validação externa. Nesta fase utilizam-se amostras que não fazem parte da calibração, calculando-se o RMSEP (raiz quadrada do erro quadrático médio de previsão) a partir do grau de concordância entre valor de referência ( $y_i$ ) e o valor estimado ( $\hat{y}_i$ ), e o N amostras utilizadas validação externa (equação 14) (PASQUINI, 2003).

$$RMSEP = \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / N \right\}^{1/2} \quad (14)$$

Xu e Liang (2001) recomendam o RMSEP como uma das melhores formas de avaliação dos modelos PLSR, onde sua minimização indica o número de VL a serem incluídas no modelo, com bom ajuste, embora, se torne oneroso por que depende de um conjunto de dados que não esteja incluído na calibração.

O PLSR tem sido utilizado associado a diferentes técnicas analíticas nas mais diversas áreas de conhecimento com o objetivo de estabelecer métodos para previsão de novos dados. Foi utilizado com sucesso associado à técnica de espectroscopia VIS/NIR para prever pH e sólidos solúveis em vinho de arroz (LIU *et al.*, 2007), sólidos solúveis em bebidas a base de chá (LI *et al.*, 2007), teor de ácidos em suco de laranja (CEN, *et al.*, 2007). Foi utilizado em associação à espectroscopia Raman para estimar fatores que afetam a cristalização de isômeros (WONG *et al.*, 2007) e associado a espectroscopia NIR para determinar a qualidade de gasolina (BALABIN; SAFIEVA; LOMAKINA, 2007), assim como, para quantificar N, matéria orgânica e pH em solos (HE *et al.*, 2007).

### 3 OBJETIVOS

O presente trabalho foi desenvolvido buscando atingir o seguinte objetivo geral:

Desenvolver metodologias analíticas orientadas a análise de queijo, utilizando-se espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier no modo refletância difusa (DRIFTS) e ferramentas de calibração multivariada.

Para o desenvolvimento deste objetivo a proposta foi dividida nos objetivos específicos apresentados a seguir:

(i) Aplicar a análise de componentes principais (PCA) com a finalidade de discriminar diferentes tipos de queijo, utilizando-se informações espectrais no infravermelho.

(ii) Desenvolver metodologia para determinação das características físico-químicas (gordura, proteínas, umidade, extrato seco, cinzas e pH) de queijo prato, utilizando espectroscopia DRIFT e processos de calibração multivariada (regressão de mínimos quadrados parciais).

(iii) Desenvolver metodologia para determinação do índice de maturação de queijo prato, considerando os índices de proteólise, utilizando espectroscopia DRIFT e processos de calibração multivariada (regressão de mínimos quadrados parciais).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 AMOSTRAS E AMOSTRAGEM

#### 4.1.1 Amostras e amostragem de diferentes tipos de queijos

Vinte e seis amostras de diferentes tipos de queijos (Tabela 1), contendo entre 50 e 100 g, foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Ponta Grossa e Curitiba. Após coleta, as amostras foram mantidas na sua forma original, em bloco ou fatias, acondicionadas em pacotes de polietileno e conservadas sob refrigeração, e, no máximo uma semana, foram transportadas em caixas de isopor até os Laboratórios da Universidade Federal do Paraná, para realização de análises espectroscópicas.

TABELA 1 - IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS DE DIFERENTES TIPOS DE QUEIJOS

Número da amostra na matriz*	Amostra (tipo de queijo)	Número da amostra na matriz*	Amostra (tipo de queijo)
1,2	Cheddar	27,28	Minas padrão
3,4	Mussarella	29,30	Gouda (C)
5,6	Gouda (A)	31,32	Maasdammer Holandês
7,8	Reino bola	33,34	Mozzarella de bufala
9,10	Prato	35,36	Estepe (B)
11,12	Provolone (A)	37,38	Gruyère (B)
13,14	Gouda (B)	39,40	Parmesão (A)
15,16	Gruyère (A)	41,42	Parmesão (B)
17,18	Produto a base de queijo (A)	43,44	Parmesão (C)
19,20	Produto a base de queijo (B)	45,46	Processado
21,22	Queijo colonial	47,48	Gorgonzola
23,24	Estepe (A)	49,50	Roquefort Dinamarquês
25,26	Provolone (B)	51,52	Chanclich

\*: duplicatas e letras A, B e C (diferentes marcas).

#### 4.1.2 Amostras e amostragem de queijo prato

Vinte e uma amostras de queijo prato de diferentes marcas, com datas de validade permitidas para consumo (máxima de seis meses), contendo entre 300 e 500 g, foram adquiridas em estabelecimentos comerciais da cidade de Ponta Grossa e Curitiba, transportadas em isopor até os Laboratórios da Universidade Federal Tecnológica do Paraná - Campus Ponta Grossa (UTFPR-PG).

Cada amostra foi dividida em duas partes, sendo 250 a 300g para análises físico-químicas e 50 a 100g para análise por infravermelho, e identificadas numericamente.

As amostras destinadas a análises físico-químicas foram trituradas em triturador doméstico e acondicionadas em pacotes de polietileno, conservadas sob refrigeração até execução das análises de todos os parâmetros.

As amostras destinadas às análises espectroscópicas foram mantidas na sua forma original, em bloco ou fatias, acondicionadas em pacotes de polietileno e conservadas sob refrigeração. No máximo em uma semana, as amostras foram transportadas e acondicionadas em caixas térmicas até o laboratório da UFPR para realização das referidas análises, em triplicata.

### 4.2 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS

As análises físico-químicas de amostras de queijo prato foram realizadas conforme método oficial da AOAC (1995) em triplicata, exceto para gordura, em duplicata.

#### 4.2.1 Extrato seco e umidade

O teor de extrato seco total foi obtido gravimetricamente, utilizando-se estufa convencional, enquanto que o teor de umidade foi obtido por diferença.

Pesaram-se 3 g ( $\pm 0,0001$ ) de amostra de queijo em uma placa de alumínio e se adicionou areia purificada, previamente seca e tarada. Após homogeneização, a mistura foi colocada em estufa a 104° C por 7 horas. Em seguida, as placas foram transferidas para dessecadores para resfriamento e pesagem.

#### 4.2.2 Cinzas

O conteúdo de cinzas dos queijos foi determinado pesando-se 2 g ( $\pm 0,0001$ ) da amostra de queijo em cadinho de porcelana previamente tarado. Em seguida carbonizou-se a amostra em chapa aquecedora de modo a evitar o espalhamento e perda da gordura, colocando-se em mufla a 540 °C por 18 horas. Ao final desse período, resfriou-se a amostra a temperatura ambiente em dessecador e, por fim, pesou-se.

#### 4.2.3 Gordura

Alíquotas de 2,5g ( $\pm 0,0001$ ) de amostras moídas e homogeneizadas foram pesadas diretamente no suporte de butirômetro de Van Gulik (próprio para queijo). Após adaptação deste suporte ao conjunto, foram adicionados 5 mL de água a 42 °C, seguido de homogeneização e adição de 10 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,825g/cm<sup>3</sup>). Este conteúdo foi agitado moderadamente. Os butirômetros foram colocados em banho-maria a 65 °C sob agitação até total degradação da amostra.

Após degradação das amostras, os butirômetros foram retirados do banho, adicionando-se 1 mL de álcool isoamílico e água aquecida a 30 °C até a marca de 32,5 da escala, retornando ao banho-maria por 2 a 3 minutos, sem agitação, obtendo-se mistura homogênea. As rolhas superiores foram ajustadas e o conjunto foi levado à centrifugação em centrífuga de Gerber por 5 minutos.

Após centrifugação, os butirômetros foram retornados ao banho-maria e o volume de gordura foi medido na escala do butirômetro, expresso em porcentagem,

sendo convertido para massa pesada, pela expressão:  $\%G = (\text{leitura} \times 3) / \text{massa da amostra}$ .

#### 4.2.4 Frações nitrogenadas

##### 4.2.4.1 Nitrogênio total (NT)

O conteúdo de nitrogênio total dos queijos foi determinado empregando-se o método de Kjeldahl, conforme metodologia descrita pela AOAC (1995).

Primeiramente procedeu-se o preparo da amostra conforme Pereira *et al.* (1997), em que aproximadamente 10,0 g ( $\pm 0,0001$ ) de queijo foram pesadas e transferidas para copo do agitador elétrico, adicionando-se 80 mL de água destilada a 40-50 °C e 40,0 mL de citrato de sódio 0,50 mol L<sup>-1</sup>. Em seguida a mistura foi agitada por 7 minutos e a solução resultante foi transferida para um balão volumétrico de 200,0 mL, completando o volume com água após resfriamento (solução A). Desta suspensão foram retiradas alíquotas de 5,00 mL para realizar a digestão.

As alíquotas foram transferidas para tubos de digestão adicionando 0,50 g de catalisador, composto por sulfato de cobre II e sulfato de potássio, e 5,00 mL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida as amostras foram digeridas por 1 hora a 100 °C, 1 hora a 200°C, 1 hora a 300°C e a 400 °C até final da digestão, caracterizada por solução verde translúcida, somando tempo médio de 6 horas. Decorrido este tempo, a solução contida nos tubos foi resfriada e diluída com 10,0 mL de água destilada antes da destilação.

Para destilação, os tubos de micro Kjeldahl com os conteúdos digeridos foram adaptados ao sistema, neutralizados com excesso de NaOH 30%, aproximadamente 30,0 mL. O destilado foi obtido em erlenmeyer de 250 mL, contendo 10,00 mL de ácido bórico 4% (m/v), até que atingisse a marca de 50,0 mL.

A titulação foi realizada em presença de indicador misto, composto por vermelho de metila e azul de metileno, sob agitação constante, com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup>.



O volume gasto foi utilizado para cálculo de % de nitrogênio total contido nas amostras de queijos.

#### 4.2.4.2 Determinação de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS)

O conteúdo de nitrogênio solúvel dos queijos foi determinado segundo método descrito por Pereira *et al.* (2001) e a metodologia da AOAC (1995).

Para determinação do nitrogênio solúvel, transferiram-se 100 mL da suspensão A (preparada conforme procedimento descrito no item 4.2.4.1) para um béquer de 250 mL e adicionaram-se 10,0 mL de HCl 1,41 mol L<sup>-1</sup> e 15,0 mL de água destilada. Em seguida determinou-se o pH da solução resultante, corrigindo para 4,6 com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Filtrou-se a suspensão com papel filtro Whatman nº. 42 e deste filtrado tomou-se uma alíquota de 5,00 mL para realizar a digestão conforme descrito no item 4.2.4.1.

#### 4.2.4.3 Nitrogênio não protéico (NNP)

A determinação do conteúdo de nitrogênio não protéico foi realizada conforme metodologia descrita por Pereira *et al.* (2001) e a metodologia da AOAC (1995).

Para determinação do nitrogênio não protéico, 50,0 mL da solução A (preparada conforme procedimento descrito no item 4.2.4.1.) foram transferidos para um béquer de 100 mL, adicionando-se 50,0 mL de ácido trocloreacético 12%. Em seguida, deixou-se em repouso por 15 minutos e filtrou-se com papel filtro Whatman nº 42. Deste filtrado, tomou-se uma alíquota de 5,00 mL para realizar a digestão conforme descrito no item 4.2.4.1.

#### 4.2.4.4 Índice de proteólise

O índice de proteólise dos queijos foi avaliado por meio dos índices de extensão (IEP) e de profundidade (IPP), conforme Barbano; Lynch e Fleming (1991), seguindo as equações abaixo:

$$\text{I.E.P} = \frac{\% \text{ de nitrogênio solúvel em pH 4,6 (NS)} \times 100}{\% \text{ nitrogênio total (NT)}}$$

$$\text{I.P.P} = \frac{\% \text{ de nitrogênio não protéico (NNP)} \times 100}{\% \text{ nitrogênio total (NT)}}$$

#### 4.2.5 pH

O pH dos queijos foi avaliado utilizando potenciômetro digital TECNAL, calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

Em um béquer de 50,0 mL pesaram-se 20,0 g ( $\pm 0,0001$ ) da amostra de queijo triturada, adicionando em seguida 20,0 mL de água destilada. Após agitação da mistura, a leitura de pH foi realizada diretamente.

#### 4.2.6 Cloreto (como NaCl)

A porcentagem de cloreto de sódio presente nos queijos foi determinada pelo método clássico de Mohr, adicionando-se duas gotas de  $\text{HNO}_3$  concentrado nos cadinhos contendo as cinzas, transferindo-se quantitativamente com água destilada e aquecida a 90 °C para filtro adaptado a um balão volumétrico de 100 mL. Após a filtração o balão foi resfriado e o volume completado com água destilada.

Uma alíquota de 20,0 mL da solução do filtrado foi transferida para erlenmeyer de 250 mL, neutralizando-se com  $\text{CaCO}_3$  e adicionando-se 0,50 mL do indicador Cromato de potássio a 5% (m/v). A titulação foi realizada com  $\text{AgNO}_3$  0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  até viragem característica.

#### 4.2.7 Acidez titulável

A determinação da acidez titulável dos queijos foi efetuada pesando-se 10,0 g da amostra de queijo triturada em um balão volumétrico de 100 mL, adicionando-se água destilada a 42 °C até completar o volume. Após realizou-se agitação vigorosa, decantação e filtração com papel filtro Whatman nº 42. Pipetou-se uma alíquota de 10,0 mL do filtrado transferindo-se para erlenmeyer de 250 mL, acrescentando-se 4 gotas do indicador fenolftaleína 1% (m/v) e titulou-se com solução de NaOH 0,1 mol  $\text{L}^{-1}$  padronizada até ponto de viragem.

### 4.3 ANÁLISES ESPECTROSCÓPICAS

As análises espectroscópicas das amostras de diferentes tipos de queijos e de queijo prato foram realizadas em espectrofotômetro infravermelho da série Excalibur BIORAD, FTS 3500GX; equipado com “beamsplitter” de KBr; detector de sulfeto de triglicerina deuterada (DTGS), fonte de radiação de carvão de silício e acessório de refletância difusa. Os espectros foram registrados entre 7500 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , acumulando 128 varreduras, em ambiente com temperatura controlada em 18°C.

Um compartimento (porta-amostra) contendo um branco com KBr previamente dessecado em estufa e 4 outros contendo as amostras em fatias com 10 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, em temperatura ambiente, foram adaptados ao acessório de DRIFT, de tal forma que toda a extensão do recipiente estivesse preenchido.

#### 4.4 ANÁLISES QUIMIOMÉTRICAS

Os modelos multivariados de calibração foram desenvolvidos por uma rotina de regressão de mínimos quadrados parciais (PLSR), aplicada com software PLS-toolbox 1.5, operando em ambiente Matlab (versão 4.2 e 6.5). Para análise estatística e montagem de matrizes de dados utilizou-se o software Origin 6.1<sup>®</sup>.

A análise de componentes principais (PCA) foi realizada a partir de matrizes formadas com dados espectrais, de amostras de queijo prato e de diferentes tipos de queijos, compreendendo as regiões do infravermelho médio (MID: 4000 a 1520  $\text{cm}^{-1}$ ), infravermelho próximo (NIR: 7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) e MID/NIR (7500 a 1520  $\text{cm}^{-1}$ ).

Os modelos de calibração orientados à previsão dos parâmetros físico-químicos de queijo prato foram desenvolvidos a partir das informações espectrais de 16 amostras, enquanto que outras 5 foram reservadas para validação. No caso da determinação dos índices de proteólise os modelos foram desenvolvidos a partir de 13 amostras, reservando-se outras 4 para a fase de validação.

Os dados espectrais foram utilizados sem pré-processamento e pré-processados por rotinas de: a) Alisamento pelo método Savitzky-Golay, empregando-se intervalos de alisamento de 3 a 33 pontos (representados como S3 a S33) e ajustados por polinômio de segunda ordem, seguido de derivação e b) Correção multiplicativa de sinal (MSC). Em todos os casos, os espectros foram centrados na média.

O processamento dos dados consistiu em aplicar o PLS1 e PLS2 em matrizes contendo os espectros MID, NIR e MID/NIR (X) e matrizes contendo os resultados de análises químicas (Y). Após o processamento e avaliação dos resultados obtidos com validação cruzada, onde cada modelo forneceu a indicação do percentual de variância explicada para cada variável latente, foram construídos inúmeros modelos, considerando diferentes números de variáveis latentes (HAALAND e THOMAS, 1988, HAALAND, 1990; HELLAND; NAES; ISAKSSON, 1995), pré-processamento e região espectral.

Para detecção de amostras anômalas, utilizaram-se os critérios de resíduos de “Student” e “Leverage”. O primeiro se origina no sistema de validação cruzada, apresentando um valor limite de 2,5, enquanto que, o segundo apresentando um

valor limite equivalente a  $3VL/N$  (onde VL representa o número de variáveis latentes e N o número de amostras).

A exatidão dos modelos foi verificada conforme Wise e Gallagher (1998), Ferrarini (2004), Singh *et al.* (2007), Morgano *et al.* (2007) calculando-se o grau de concordância entre o valor de referência ( $y_i$ ) e o valor estimado ( $\hat{y}_i$ ), valores estes expressos na forma de raiz quadrada do erro quadrático médio de calibração (RMSEC - “Root Mean Squares Error of Calibration”), de validação cruzada (RMSECV – “Root Mean Squares Error of Leave One Out Cross-Validation” com “n” interações) e de previsão (RMSEP – “Root Mean Squares Error of Prediction”), e ER (%) - Erro relativo percentual:

$$\text{RMSEC; RMSEP} = \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / N \right\}^{-1/2}$$

$$\text{ER (\%)} = \{(y_i - \hat{y}_i) / y_i\} \times 100$$

$$\text{RMSECV} = \left\{ \sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / N \right\}^{1/2}$$

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 DISCRIMINAÇÃO DE DIFERENTES TIPOS DE QUEIJO

#### 5.1.1 Caracterização Espectroscópica de Diferentes tipos de queijo

Espectros MID/NIR obtidos por espectroscopia DRIFT de diversos tipos de queijo são apresentados na Figura 16. De maneira geral, observa-se um perfil espectroscópico muito similar ao reportados para queijo Cheddar (CHEN, IRUDAYARAJ; McMAHON, 1998), e ao espectro de queijo prato, obtido no presente trabalho.

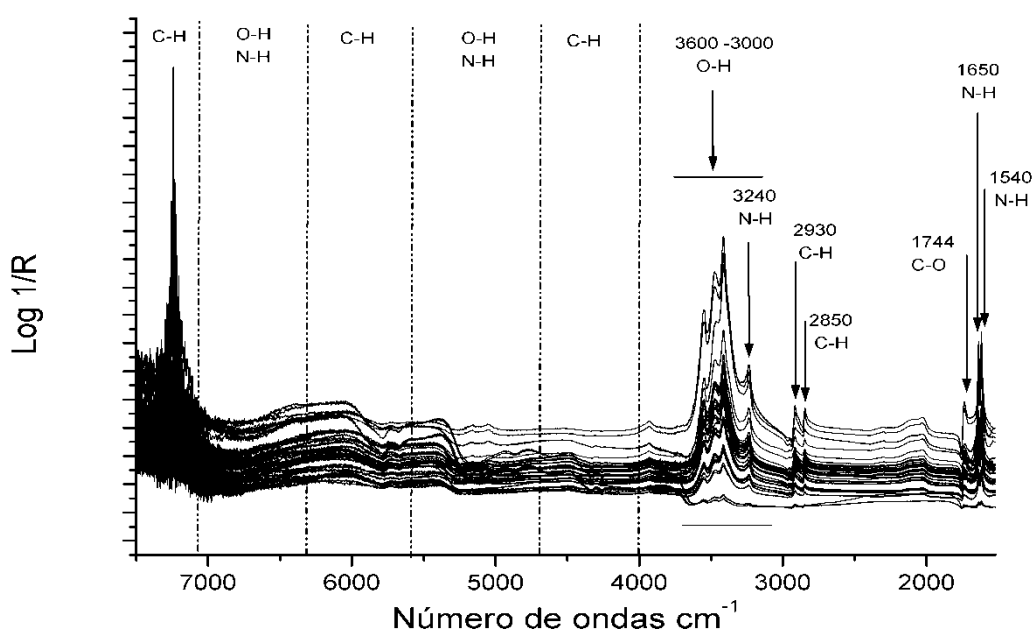


FIGURA 16 - ESPECTROS CARACTERÍSTICOS DE QUEIJOS DIFERENTES OBTIDOS NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$  E NO INFRAVERMELHO MÉDIO DE 3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$

Os espectros se caracterizam por apresentarem bandas de absorção na região de 3760 a 1520  $\text{cm}^{-1}$ , principalmente relacionadas com a presença de água

(3600 a 3000  $\text{cm}^{-1}$ ), gordura (2930, 2850 e 1744  $\text{cm}^{-1}$ ) e de proteína (3240, 1650 e 1540  $\text{cm}^{-1}$ ).

Na região média (MID), observam-se bandas de absorção entre 3760 e 1520  $\text{cm}^{-1}$ , principalmente relacionadas com a presença de água (vibração de grupos hidroxila, entre 3600 e 3000  $\text{cm}^{-1}$ ), gordura (vibrações de grupos C-H, associadas aos grupos metil e metileno em 2930 e 2850, e sinal característico de grupos carbonila entre 1730 e 1765  $\text{cm}^{-1}$ ), e proteínas (vibrações de grupos N-H em 3240, 1650 e 1540  $\text{cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN, 1994; SUREWICZ e MANTSCH, 1988 SARVER e KRUEGER, 1991; BELTON; SAFFA; WILSON, 1988).

Na região do infravermelho próximo (NIR) observam-se bandas de absorção entre 7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , associadas à sobretons e combinação de ligações de grupos C-H, N-H e O-H (MURRAY, 1993, BATTEN, 1998, DEAVILLE e FLINN, 2000; REEVES, 2000).

Bandas de absorção em espectros NIR, próximas a 1400 nm (7142,9  $\text{cm}^{-1}$ ) associadas a OH, foram relacionadas à presença de água (MURRAY, 1986); assim como em 1900 nm (5263,2  $\text{cm}^{-1}$ ) (COZZOLINO e MORON, 2005). A região próxima a 2200 nm (5555,6  $\text{cm}^{-1}$ ), também proveniente da combinação de vibrações OH, foi correlacionada com a presença de minerais (DAUGHTRY, 2001; MADEJOVA, 2003; BÜNING-PFAUE, 2003).

#### 5.1.2 Discriminação de diferentes tipos de queijos utilizando análise de componentes principais (PCA)

Na Tabela 2 se apresentam os valores de variância explicada por cada componente principal, processando-se os espectros NIR (7500-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) de 26 amostras de diferentes tipos de queijos, submetidos a pré-processamento por autoescalamamento.

Em primeiro lugar, é interessante salientar que grande parte da informação espectral pode ser convenientemente representada por apenas duas componentes principais, as quais são responsáveis por “explicar” aproximadamente 97% da informação contida nos dados originais. Adicionalmente, observa-se que a introdução de novas componentes principais não contribui de forma significativa para explicar a variância espectral, ao mesmo tempo em que detalhes espectrais passam

a ser considerados. Em função destes argumentos, o estudo foi desenvolvido com apenas duas CP, o que implica na possibilidade de observar praticamente toda a informação espectral em apenas duas dimensões.

TABELA 2 - VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES

CP	% Variância	
	Esta CP	Total
1	85,78	85,78
2	<b>11,29</b>	<b>97,07</b>
3	0,73	97,80
4	0,53	98,33
5	0,38	98,71
6	0,23	98,95
7	0,13	99,08

Os gráficos de loadings para a primeira e segunda componente principal são apresentados nas Figuras 17 e 18, as quais permitem identificar regiões espectrais de relevância na configuração de cada CP. Enquanto a CP1 parece mais relacionada com sinais associados a C-H, a segunda CP parece mais influenciada por regiões relacionadas com grupos O-H, provavelmente associados à presença de água.

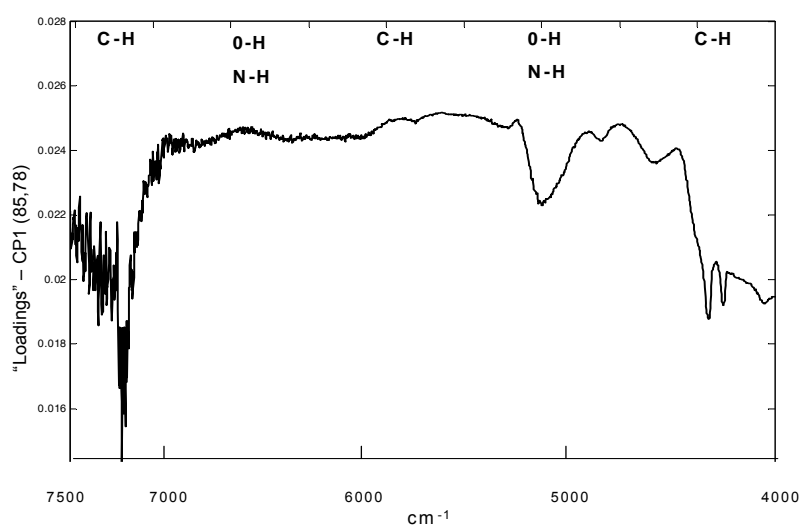


FIGURA 17 - “LOADINGS” DA CP1 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES



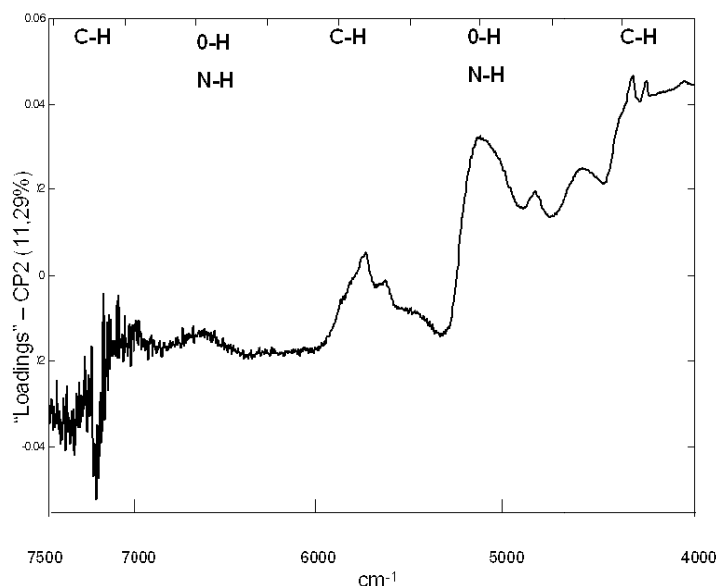


FIGURA 18 - “LOADINGS” DA CP2 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES

Na avaliação do gráfico de “scores” (Figura 19), é possível verificar homogeneidade no conjunto amostral, assim como estreita semelhança nas amostras incluídas na elipse maior.

A primeira tendência de agrupamento se dá em relação ao conteúdo de água, evidenciando-se grupos de alta (minas padrão e processado), baixa (parmesão) e média umidade (todos os tipos restantes). Esta diferenciação é viabilizada pela segunda CP (CP2), a qual, tal como comentado anteriormente, é fortemente influenciada pelas regiões associadas à hidroxila.

Essa separação é relevante, considerando que o Ministério da Agricultura, no regulamento de identidade e qualidade de queijos (BRASIL, 1996), classifica os queijos quanto ao conteúdo de umidade, em queijos de baixa (até 35,9%), média (36 a 45,9%), alta (46 a 54,9%) e muito alta umidade (superior a 55%).

Em análise mais detalhada observam-se alguns agrupamentos envolvendo queijos diferentes (ex. Reino, mussarela, provolone A e B), assim como diferenciação de queijos do mesmo tipo (ex. Gruyère A e B). Neste caso, a

semelhança está relacionada com similares teores de umidade, enquanto que a diferença se relaciona com diferenças de processamento, que levam a sensível modificação do processo de fermentação butírica.

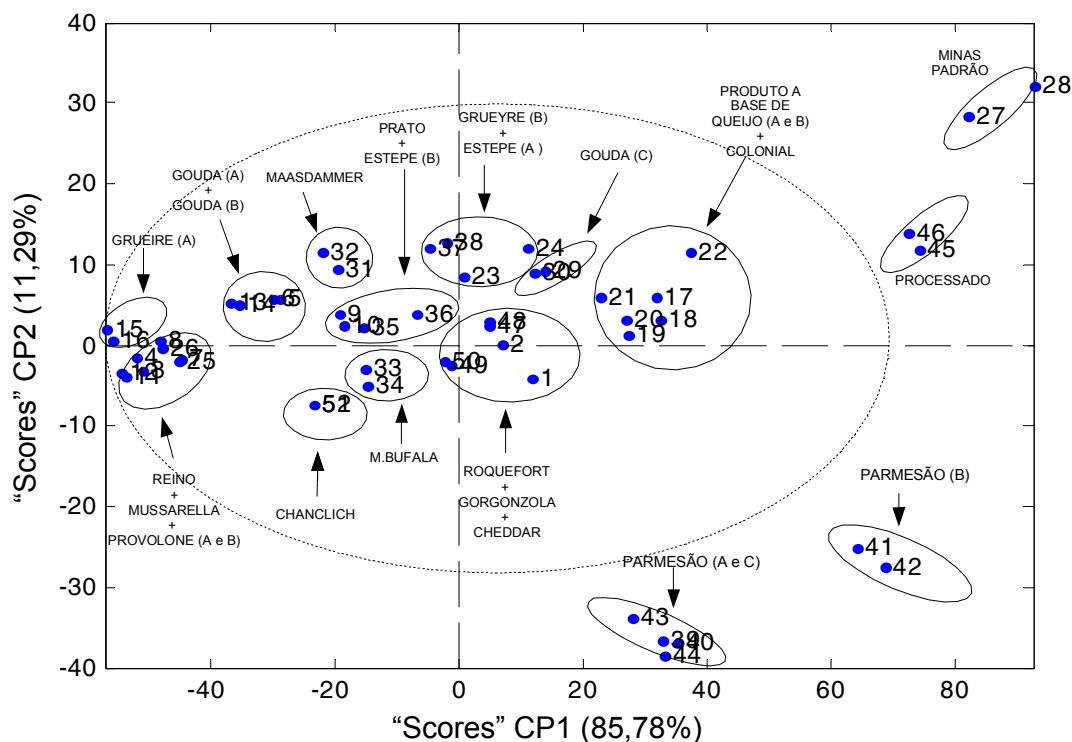


FIGURA 19 - “SCORES” CP2 *VERSUS* CP1, NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS NIR DE 26 AMOSTRAS DE QUEIJOS DIFERENTES

Uma grande similaridade foi observada entre queijos gouda A e B, os quais, por sua vez, são bastante diferentes do gouda C. Estudos demonstraram que este queijo pode sofrer alterações importantes na composição química após a maturação, dependendo da temperatura e do tratamento inicial do leite (SKEIE; LINDBERG; NARVHUS, 2001). De maneira geral, observa-se que estes queijos podem apresentar teores variados de gordura, apresentando-se macio e untuoso (FURTADO e LOURENÇO NETO, 1994; EPAMIG, 1988 e SCOTT, 1991).

O queijo estepe, amostras A e B, apresentaram diferenças entre si, sendo a amostra A, mais similar ao Gruyère B e a amostra B, ao prato. O queijo tipo estepe

fabricado no Brasil apresenta características físico-químicas muito semelhantes ao prato, considerado uma de suas variedades (FURTADO, 1990).

Os queijos roquefort, gorgonzola e cheddar ficaram agrupados, indicando forte similaridade. Tipicamente, gorgonzola e cheddar apresentam valores muito próximos de umidade, com médias da ordem de 43% (FURTADO e LOURENÇO NETO, 1994; CHEN, IRUDAYARAJ, McMAHON, 1998).

O queijo colonial se classificou diferente da maioria, porém agrupado aos produtos a base de queijo. Embora sejam poucos os registros de sua composição, a literatura registra alta variabilidade entre as amostras, com valores médios de pH igual a 5,43, 43,72% de umidade, 1,68% de cloreto de sódio, 22,20% de gordura e 28,61% de proteína, e pouca padronização do seu processo de produção (IDE e BENEDET, 2001).

O queijo mozzarella de búfala se diferenciou dos demais, e particularmente do Mussarela, provavelmente em razão de um maior teor de proteína e gordura (VERRUMA e SALGADO, 1994).

De forma geral, a análise de componentes principais fundamentada em antecedentes espectroscópicos apresentou potencialidade para a discriminação de queijos, com algumas exceções provocadas por características similares entre queijos diferentes e diferenças significativas entre queijos similares, por conta de diferenças processuais. Adicionalmente, os resultados sugerem a possibilidade de quantificar parâmetros físico-químicos de interesse, particularmente o teor de umidade.

## 5.2 QUEIJO PRATO

### 5.2.1 Caracterização físico-química

Os resultados da análise físico-química das 21 amostras de queijo prato, envolvendo determinações de extrato seco, umidade, proteína, gordura, cinzas, acidez, pH e NaCl, são apresentados na Tabela 3 .

Na avaliação de macro-constituintes, foi observado que de maneira geral, todos os valores se aproximam da composição média atribuída ao queijo prato. Isto é, umidade (42-44%), proteína (23-25%) e gordura (26-29%) (FURTADO 1990; VALLE *et al.*, 1992). Estes resultados corroboram a afirmação de Sanches (2000), que reporta o queijo prato como bem padronizado tecnologicamente e o melhor caracterizado comercialmente, complementando ainda que a aceitabilidade do consumidor a este produto está relacionada com as suas características físico-químicas e sensoriais.

Uma maior variabilidade foi observada nos valores de cinzas (3,60 a 5,06%) e pH (4,89 a 6,25), este último, inclusive, apresentou variabilidade maior que os intervalos de 5,2 e 5,4 (FURTADO, 1990 e FURTADO e LOURENÇO NETO 1994), e 5,8 a 5,9 no final da maturação (VALLE *et al.*, 1992).

Tanto os valores dos macro-constituintes quanto os valores de cinzas e pH indicam diferenças significativas entre as amostras para um mesmo tipo de produto, entretanto são valores homogêneos para a elaboração de modelos de calibração.

As maiores variações ocorreram nos teores de NaCl, com valores entre 0,95 e 1,80%, superior ao intervalo descrito por Furtado (1990), que corresponde a faixa de 1,6 a 1,9.

A acidez de queijo prato pode sofrer alterações durante os primeiros trinta dias de sua validade, ainda que em condições padronizadas. Este fato foi descrito por Spadoti, Dornellas e Roig (2005), que relatam uma elevação na acidez de 0,64 a 0,93% em 10 e 45 dias de armazenamento, respectivamente.

TABELA 3 - RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

ID		E.SECO			UMIDADE			PROTEÍNA			GORDURA			CINZAS			pH			NaCl			ACIDEZ		
		%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR
1	Cal	56,4	±0,8	1,4	43,6	±0,8	1,8	23,7	±0,4	1,7	26,2	±0,0	0,0	4,14	±0,04	0,97	5,46	±0,01	0,20	1,34	±0,05	3,73	0,70	±0,00	0,00
2	Cal	57,9	±0,3	0,5	42,1	±0,3	0,7	23,7	±0,4	1,7	26,9	±0,3	1,1	4,25	±0,07	1,65	5,58	±0,01	0,20	1,80	±0,09	5,00	0,60	±0,00	0,00
3	Cal	61,4	±0,3	0,5	38,6	±0,3	0,8	27,3	±0,3	1,1	33,7	±0,1	0,3	3,85	±0,04	1,04	5,88	±0,01	0,20	1,06	±0,05	4,72	0,55	±0,04	7,30
4	Cal	57,5	±0,4	0,7	42,5	±0,4	0,9	26,5	±0,4	1,5	28,8	±1,8	6,3	3,63	±0,02	0,55	5,49	±0,01	0,20	0,95	±0,00	0,00	0,82	±0,05	6,10
5	Cal	54,2	±0,2	0,4	45,8	±0,2	0,4	24,1	±0,6	2,5	27,4	±0,4	1,5	3,60	±0,04	1,11	6,25	±0,01	0,20	1,23	±0,05	4,07	0,32	±0,01	3,10
6	Cal	59,6	±0,4	0,7	40,4	±0,4	1,0	25,2	±0,4	1,6	29,9	±0,4	1,3	4,33	±0,03	0,69	5,67	±0,01	0,20	1,68	±0,05	2,98	0,90	±0,01	1,10
7	Cal	54,1	±0,2	0,4	45,9	±0,2	0,3	21,5	±0,2	0,9	26,9	±0,6	2,2	3,68	±0,02	0,54	5,15	±0,01	0,20	1,24	±0,00	0,00	1,15	±0,03	2,60
8	Cal	59,6	±1	1,7	40,4	±1,0	2,5	22,6	±0,1	0,4	30	±0,6	2,0	4,37	±0,02	0,46	5,37	±0,01	0,20	1,68	±0,00	0,00	1,02	±0,02	2,00
9	Cal	57,5	±2,1	3,7	42,7	±2,1	4,9	21,0	±0,1	0,5	28,4	±0,2	0,7	3,69	±0,03	0,81	5,46	±0,01	0,20	1,01	±0,04	3,96	0,69	±0,04	5,80
10	Cal	58,6	±0,2	0,3	41,5	±0,2	0,6	20,6	±0,2	1,0	30	±1,7	5,7	4,07	±0,02	0,49	5,41	±0,01	0,20	1,55	±0,00	0,00	0,82	±0,10	12,2
11	Cal	59,8	±0,3	0,5	40,2	±0,3	0,7	23,6	±0,1	0,4	31	±0,0	0,0	4,34	±0,03	0,69	5,63	±0,02	0,40	1,62	±0,00	0,00	0,78	±0,03	3,80
12	Cal	56,3	±0,1	0,2	43,7	±0,1	0,2	24,4	±0,1	0,4	25,7	±0,4	1,6	4,03	±0,02	0,50	5,59	±0,01	0,20	1,41	±0,00	0,00	1,09	±0,11	10,1
13	Cal	57,7	±0,3	0,5	42,3	±0,0	0,1	15,3	±0,2	1,3	29,5	±1,0	3,4	5,06	±0,02	0,40	5,56	±0,01	0,20	1,74	±0,04	2,30	1,39	±0,00	0,00
14	Cal	58,4	±0,5	0,9	41,6	±0,5	1,2	26,0	±0,7	2,7	30,3	±0,2	0,7	3,93	±0,02	0,51	5,53	±0,02	0,40	1,13	±0,05	4,42	1,06	±0,08	7,50
15	Cal	54,7	±0,2	0,4	45,3	±0,2	0,5	24,5	±0,2	0,8	27,5	±0,0	0,0	3,86	±0,03	0,78	4,89	±0,02	0,40	1,44	±0,00	0,00	1,35	±0,02	1,50
16	Cal	57,3	±0,6	1,0	42,8	±0,6	1,3	25,8	±1,0	3,9	27,7	±0,5	1,8	3,96	±0,02	0,51	5,34	±0,01	0,20	1,15	±0,00	0,00	1,11	±0,03	2,70
17	Val	56,1	±0,2	0,4	44,0	±0,2	0,4	22,5	±0,4	1,8	28,1	±0,4	1,4	3,83	±0,01	0,26	5,68	±0,01	0,20	1,39	±0,04	2,88	0,55	±0,00	0,00
18	Val	59,5	±0,2	0,3	40,5	±0,2	0,6	26,5	±0,5	1,9	28,2	±0,3	1,1	4,01	±0,02	0,50	5,54	±0,01	0,20	1,16	±0,00	0,00	0,85	±0,05	5,90
19	Val	56,7	±1,2	2,1	43,3	±1,2	2,7	23,6	±0,7	3,0	28,2	±0,1	0,4	4,11	±0,03	0,73	5,4	±0,01	0,20	1,57	±0,18	11,46	0,94	±0,01	1,10
20	Val	58,8	±0,5	0,8	41,2	±0,5	1,2	24,4	±0,3	1,2	28,7	±0,4	1,4	4,21	±0,01	0,24	5,29	±0,01	0,20	1,61	±0,05	3,11	1,15	±0,01	0,90
21	Val	58,8	±0,2	0,3	41,2	±0,2	0,5	24,0	±0,2	0,8	29,3	±0,0	0,0	3,94	±0,02	0,51	5,36	±0,01	0,20	1,00	±0,00	0,00	0,93	±0,04	4,30
Média		57,7	±0,5	0,8	42,4	±0,5	1,1	23,7	±0,4	1,5	28,7	±0,4	1,6	4,04	±0,03	0,74	5,50	±0,01	0,20	1,39	±0,03	2,36	0,89	±0,03	3,60
Mínimo		54,1	±0,2	0,4	38,6	±0,3	0,8	15,3	±0,2	1,3	25,7	±0,4	1,6	3,60	±0,04	1,11	4,89	±0,02	0,40	0,95	±0,00	0,00	0,32	±0,01	3,10
Máximo		61,4	±0,3	0,5	45,9	±0,2	0,3	27,3	±0,3	1,1	33,7	±0,1	0,3	5,06	±0,02	0,40	6,25	±0,01	0,20	1,80	±0,09	5,00	1,39	±0,00	0,00

(ID) identificação das amostras, (Cal) calibração, (Val) validação externa, (%) valor dos parâmetros em % obtidos da média de três observações, exceto gordura duas observações, (DP) desvio padrão e (DPR) desvio padrão relativo nas replicatas.

### 5.2.2 Caracterização Espectroscópica

Um espectro de queijo prato obtido por DRIFT nas regiões MID e NIR é apresentado na Figura 20. Observa-se um perfil espectroscópico muito similar ao espectro de queijo Cheddar obtido por Chen, Irudayaraj e McMahon (1998) e aos espectros de diferentes tipos de queijos apresentados na Figura 17, o que faz com que a interpretação seja análoga à apresentada no item 5.1.1.

Em síntese, na região média (MID) se observam bandas de absorção entre  $3760$  e  $1520\text{ cm}^{-1}$ , principalmente, relacionadas com a presença de água, gordura e proteínas (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1994; SUREWICZ e MANTSCH, 1988; SARVER e KRUEGER, 1991; BELTON; SAFFA; WILSON, 1988).

Na região próxima (NIR) observam-se bandas de absorção entre  $7500$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ , associadas à sobretons e combinação de ligações de grupos C-H, N-H e O-H (MURRAY, 1993, BATTEN, 1998, DEAVILLE e FLINN, 2000; REEVES, 2000).

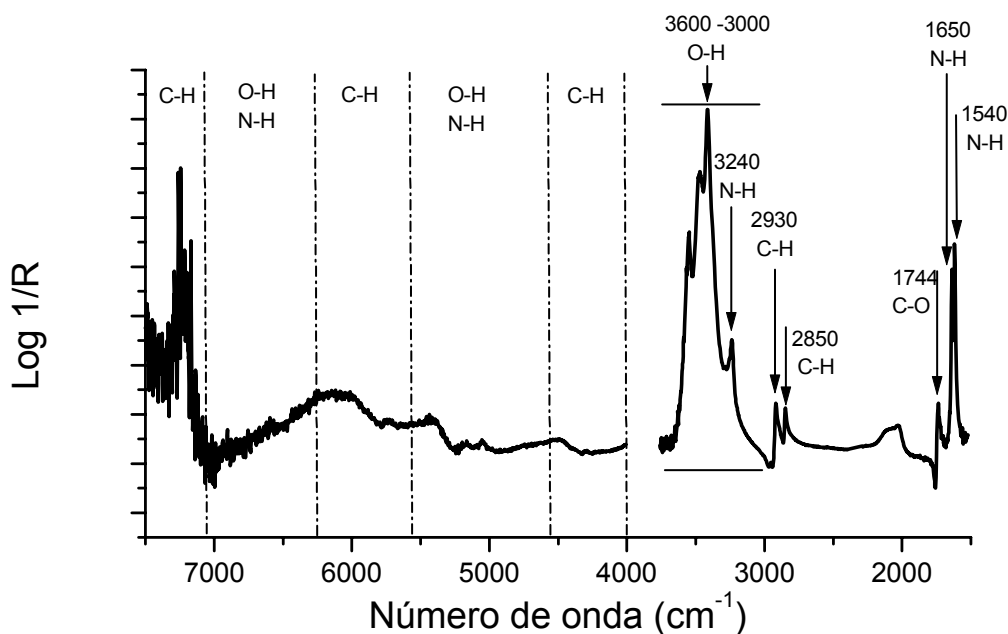


FIGURA 20 - ESPECTRO CARACTERÍSTICO DE QUEIJO PRATO OBTIDO NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE  $7500$  A  $4000\text{ cm}^{-1}$  E INFRAVERMELHO MÉDIO DE  $3760$  A  $1520\text{ cm}^{-1}$

### 5.2.3 Análise das componentes principais (PCA) dos espectros de queijo prato para composição dos conjuntos de calibração e validação externa

Os resultados da variância acumulada na análise de componentes principais dos espectros de 21 amostras de queijo prato de diferentes marcas, constituídos pelas regiões MID 4000 a 1520  $\text{cm}^{-1}$  e NIR 7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com dados centrados na média (CM), são apresentados na Tabela 4. Pode-se observar que 7 componentes principais (CP) explicam 99,09 % da variância total, sendo que a CP1 e CP2 são responsáveis por 94,33 dessa variação.

TABELA 4- VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ ) NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

CP	% Variância	
	Esta CP	Total
1	90,79	90,79
2	3,54	94,33
3	2,43	96,76
4	1,25	98,01
5	0,54	98,55
6	0,28	98,84
7	0,26	99,09

Os “loadings” correspondentes à separação inicial das amostras têm influência predominante na região MID para CP1, evidenciando uma região correspondente a OH, e região NIR para CP2, evidenciando a região correspondente a C-H, ou seja, aos sólidos da amostra, conforme as Figuras 21 e 22, respectivamente.

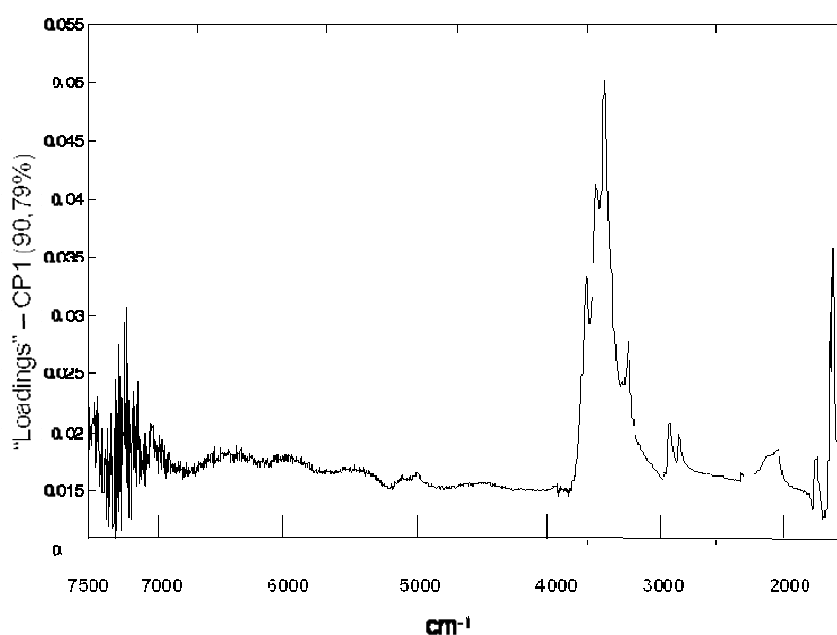


FIGURA 21 - "LOADINGS" DA CP1 NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

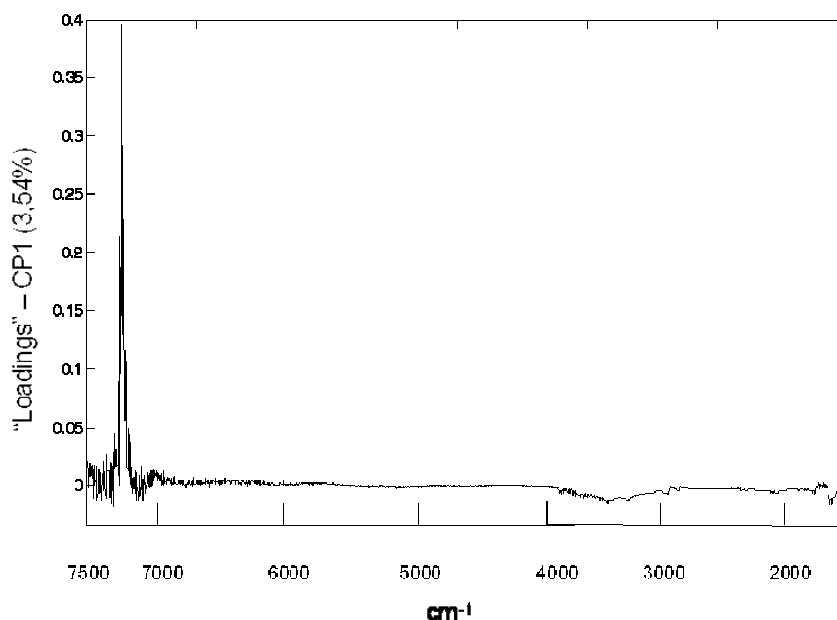


FIGURA 22 - "LOADINGS" DA CP2 NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) CENTRADOS NA MÉDIA DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO



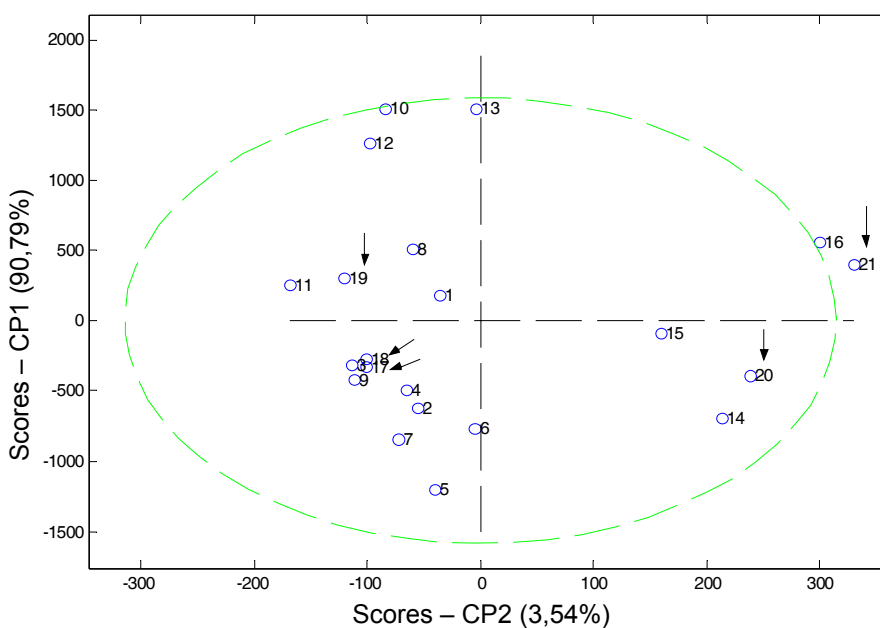


TABELA 5 - VARIÂNCIA ACUMULADA NA ANÁLISE DAS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA) DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

CP	% Variância	
	Esta CP	Total
1	95,26	95,26
2	1,46	96,71
3	0,98	97,69
4	0,74	98,44
5	0,41	98,85
6	0,25	99,10
7	0,22	99,32

Os “loadings” indicam uma maior influência da região NIR para elaboração da primeira CP, enquanto que para a CP2 as regiões NIR e MID ficam normalizadas, conforme mostram as Figuras 24 e 25, respectivamente.

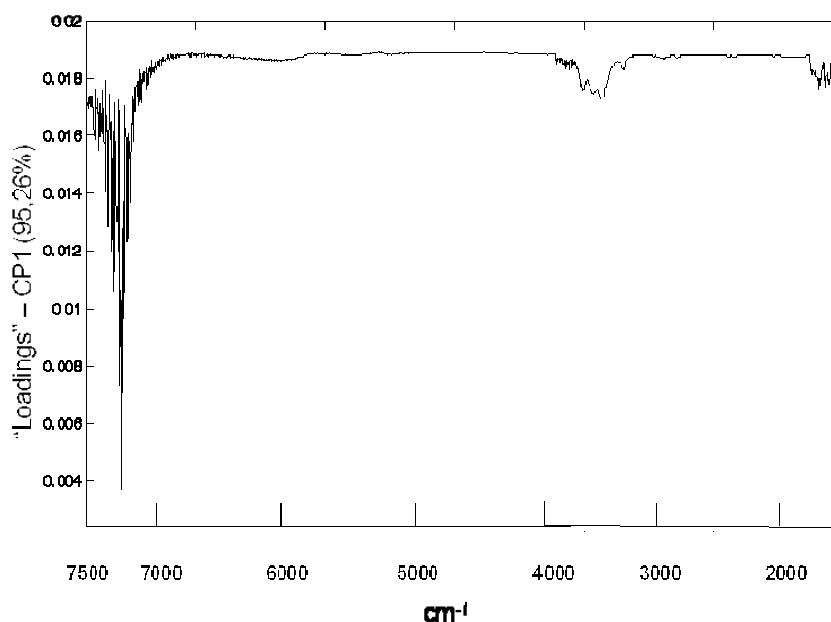


FIGURA 24 - “LOADINGS” DA CP1 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

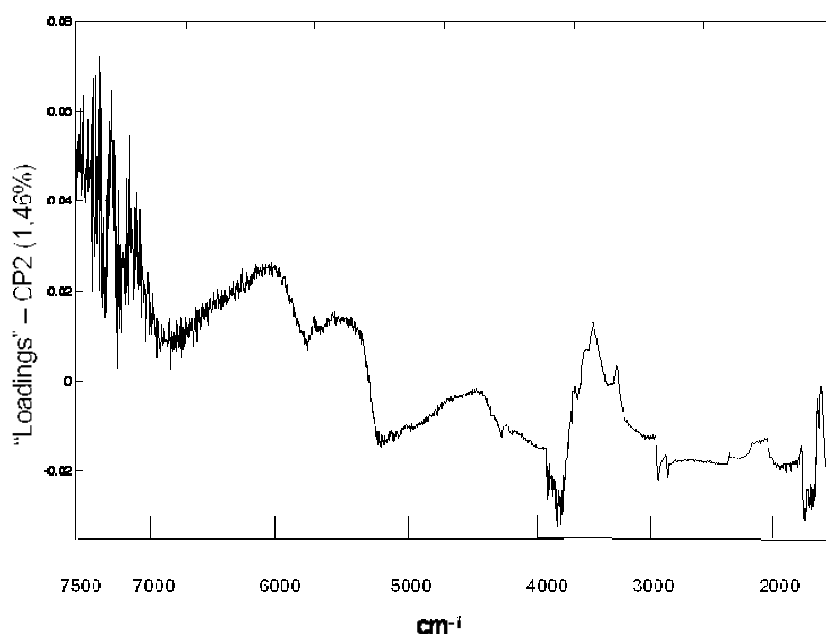


FIGURA 25 - “LOADINGS” DA CP2 NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

No gráfico de “scores” a amostra 13 se apresenta deslocada do centróide de forma significativa (Figura 26), porém ao avaliar a sua composição verificou-se que é a amostra com menor conteúdo de proteínas.

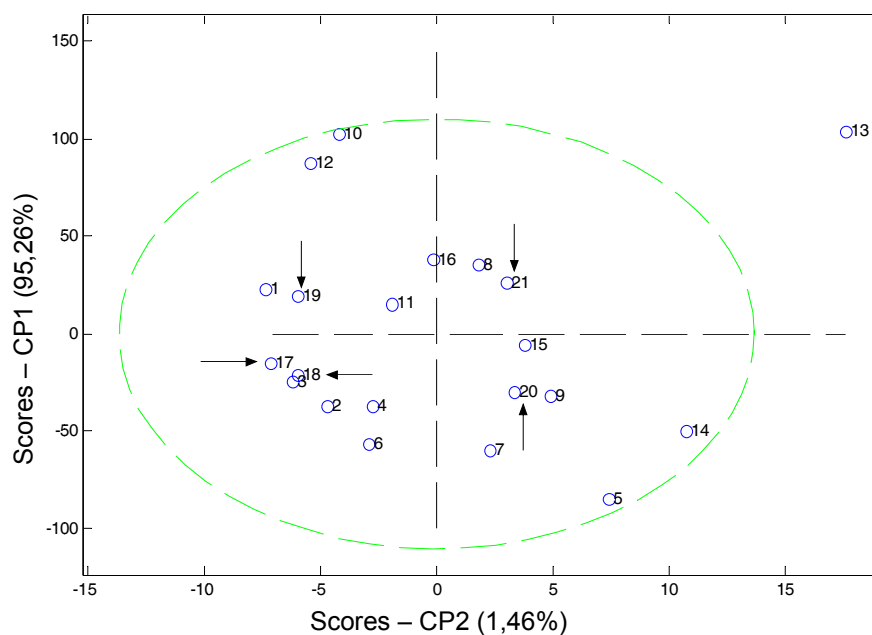


FIGURA 26 - “SCORES” DA CP1 *VERSUS* CP2, NA ANÁLISE DE PCA DOS ESPECTROS MID (3760 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ )/NIR (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) AUTOESCALADOS DE 21 AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

Verificada a homogeneidade do conjunto amostral, 5 amostras foram selecionadas para formar o conjunto de validação externa. Sendo assim, selecionaram-se duas representantes do quadrante com o maior agrupamento de amostras e uma para os demais.

#### 5.2.4 Determinação multivariada individual (PLS1) de parâmetros físico-químicos de queijo prato

Para determinação individual de cada uma das propriedades físico-químicas avaliadas, inúmeros modelos preliminares foram desenvolvidos, objetivando selecionar as melhores condições para conduzir aos menores erros de validação interna e externa, utilizando diferentes pré-processamentos, região espectral MID, NIR ou MID/NIR em vários intervalos de frequências e com diferentes números de variáveis latentes.

A capacidade preditiva definitiva dos modelos foi avaliada por validação externa, utilizando-se 5 amostras que não fizeram parte do processo de modelagem. De forma resumida, estes resultados são apresentados nas Figuras 27 e 28, nas quais se relaciona o RMSEP com a região espectral e o número de variáveis latentes (Figura esquerda) e com a região espectral e o sistema de pré-processamento (Figura direita).

De maneira geral, foi observado que os menores valores de erros na calibração e validação cruzada foram conseguidos com um grande número de variáveis latentes (VL), normalmente 10 a 15. Entretanto, foi também verificado que a variância representada a partir da oitava VL é pouco significativa, assim como os ganhos em capacidade de previsão. Por este motivo, e visando evitar a criação de modelos superajustados, que normalmente apresentam pouca robustez, foi decidido desenvolver modelos utilizando-se 4 a 8 VL.

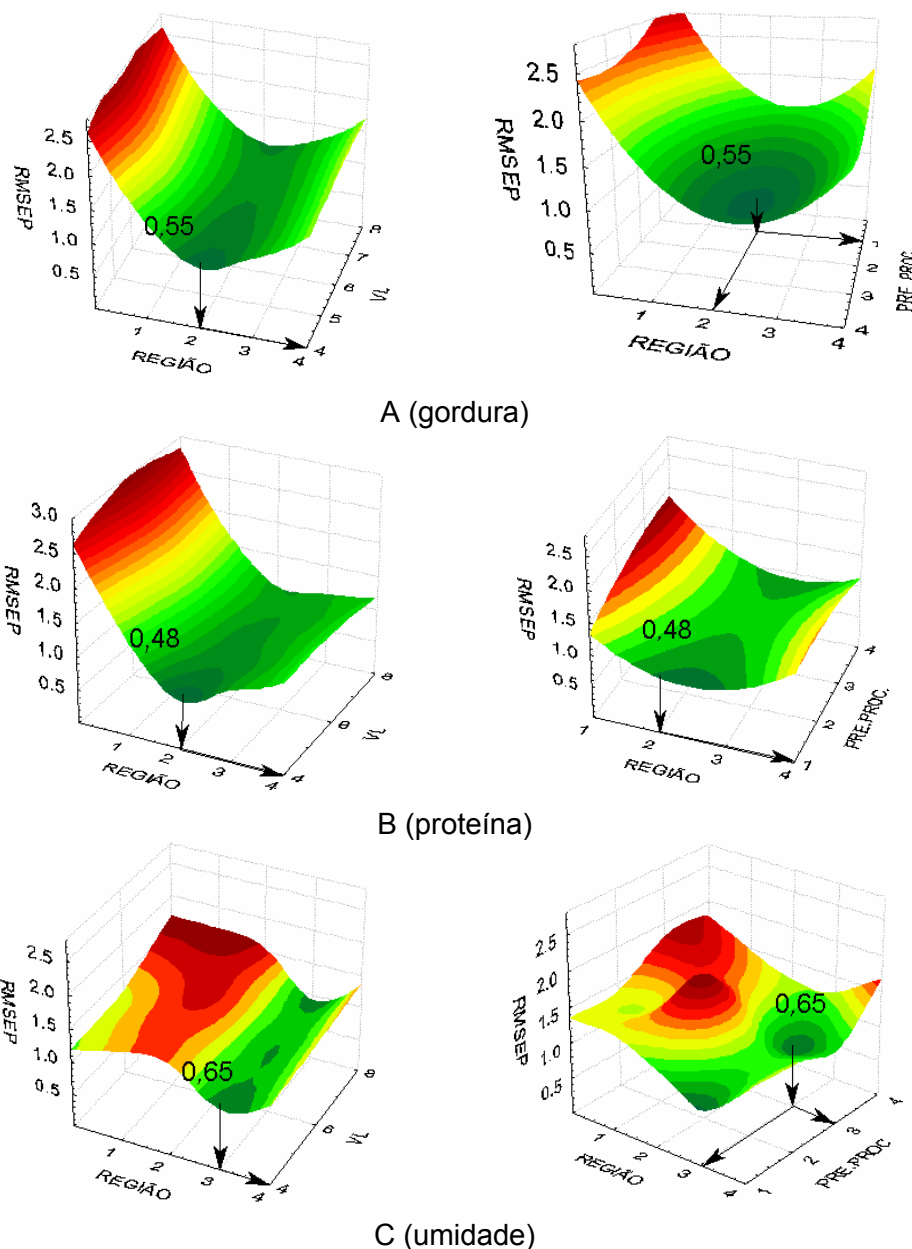


FIGURA 27 - EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS MULTIVARIADOS ORIENTADOS À DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA (A), PROTEÍNAS (B) E UMIDADE (C). REGIÃO (1) 1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800  $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4) MSC E ALISAMENTO

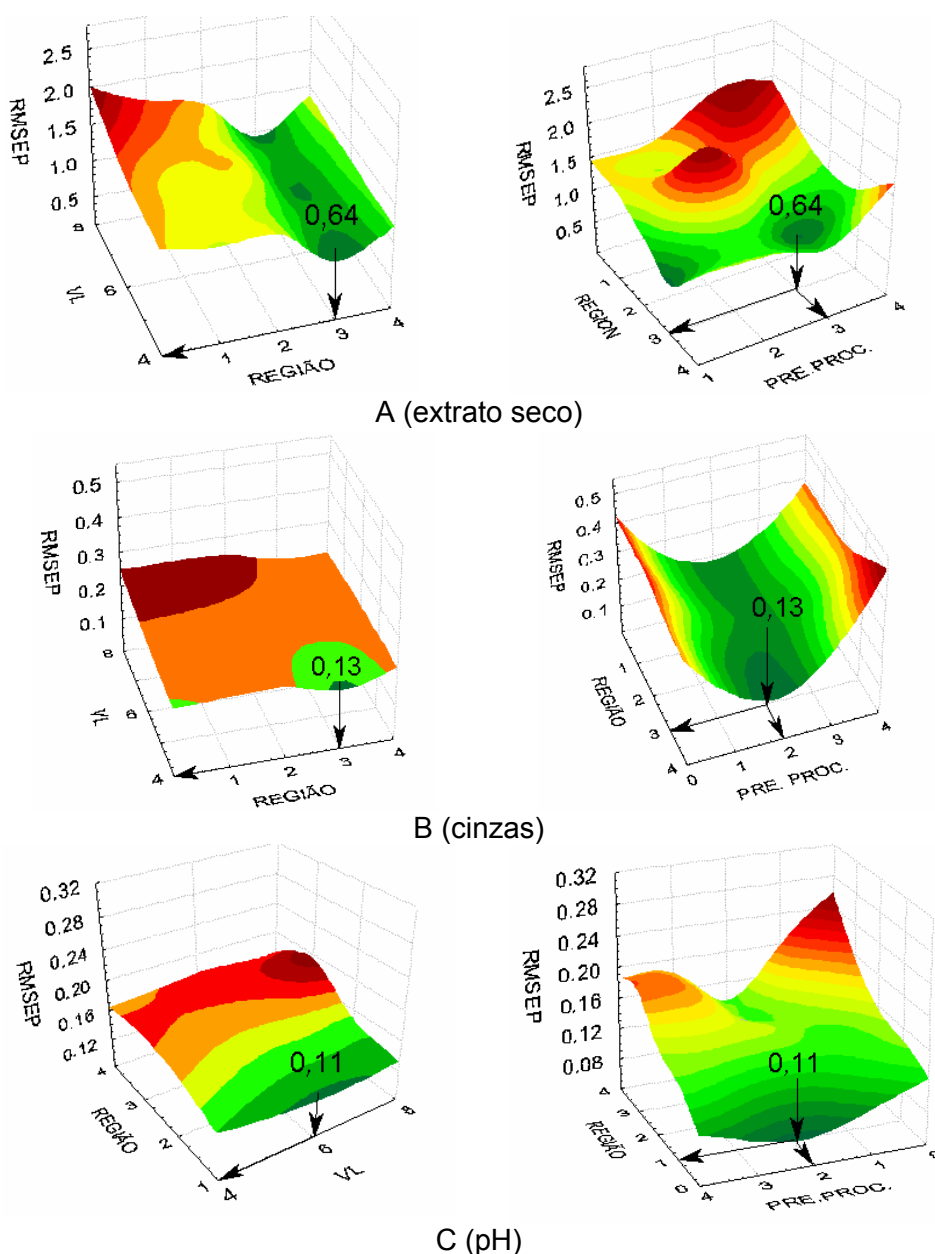


FIGURA 28 - EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS MULTIVARIADOS ORIENTADOS À DETERMINAÇÃO DO TEOR DE EXTRATO SECO (A), CINZAS (B) E pH (C). REGIÃO: (1) 1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800  $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4) MSC E ALISAMENTO

Para determinação do teor de gordura e proteínas, os melhores modelos de calibração foram conseguidos na região do infravermelho próximo (6800 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), com utilização de pré-processamento centrado na média (Figura 27). Utilizando-se 4 VL o modelo demonstrou boa capacidade preditiva, permitindo erros de previsão inferiores a 2% (Tabela 6).

A região espectral compreendida entre 7500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  permitiu a elaboração de modelos com boa capacidade de previsão de umidade, extrato seco e cinzas, utilizando-se, em todos os casos, 4 VL. O pré-processamento por MSC permitiu a melhor previsão de umidade e extrato seco (Figuras 27 e 28), com erros relativos de 1,44 e 1,02 %, respectivamente (Tabela 6). Para avaliação do teor de cinzas o pré-processamento constituído de derivação e alisamento se apresentou mais conveniente, permitindo erros de previsão da ordem de 2,6 %.

Trabalhando-se na região do infravermelho médio (3760 a 1520  $\text{cm}^{-1}$ ), excluindo-se as regiões que caracterizam a absorção por parte do  $\text{CO}_2$  e as de elevado ruído instrumental (Figura 28), praticamente todos os modelos conseguiram reproduzir a concentração dos padrões de calibração com boa aproximação. Entretanto, o melhor resultado ocorreu no modelo que visa a determinação de pH, elaborado com 6 VL e pré-processamento por derivação e alisamento, que permitiu erros de previsão da ordem de 1,4% (Tabela 6).

Realizando-se uma análise comparativa com resultados publicados na literatura (MCQUEEN *et al.*, 1995), é possível observar que os modelos aqui desenvolvidos para a determinação de gordura, proteína e umidade permitiram a obtenção de erros de previsão inferiores aos descritos na análise de queijos por FTIR-ATR. Adicionalmente, os modelos obtidos para gordura, proteína e extrato seco, apresentaram o mesmo número de VL e erros padrão de validação inferiores aos obtidos por Jankovská e Sustová (2003), que utilizaram espectroscopia NIR no modo refletância para análise de leite.

A realização da fase experimental evidenciou a complexidade das análises por via úmida, principalmente em relação à determinação de proteínas e gorduras. Estes procedimentos se mostram onerosos, demorados e geradores de grandes quantidades de resíduos, sendo frequentemente associados a problemas de repetibilidade, em razão do elevado número de operações envolvidas.

TABELA 6 - RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS PARA DETERMINAÇÃO INDIVIDUAL DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS NO INFRAVERMELHO. PRÉ-PROCESSAMENTOS: CM (CENTRADO NA MÉDIA), MSC (CORREÇÃO DO ESPALHAMENTO MULTIPLICATIVO), S5 (5 PONTOS DE ALISAMENTO, AJUSTE POLINOMIAL DE ORDEM 2 E PRIMEIRA DERIVADA) E S21 (21 PONTOS DE ALISAMENTO, AJUSTE POLINOMIAL DE ORDEM 2 E PRIMEIRA DERIVADA)

PARÂMETROS	GORDURA		PROTEÍNA		UMIDADE	E. SECO		CINZAS		pH		
	MODELAGEM											
Região espectral (cm <sup>-1</sup> )	4000-6800		4000-6800		4000-7500	4000-7500		4000-7500		1520-3760		
Pré-processamento	CM		CM		MSC	MSC		S21		S5		
VL	4		4		4	4		4		6		
Variância explicada (%X)	99,89		99,90		99,73	99,73		88,86		98,29		
Variância explicada (%Y)	93,37		97,06		99,98	99,99		88,87		96,25		
CALIBRAÇÃO												
Leverage máximo	0,75		0,75		0,75	0,75		0,75		1,13		
Anomalias	0											
RMSEC	0,52		0,48		0,58	0,57		0,12		0,06		
Rcal	0,97		0,99		0,96	0,96		0,94		0,98		
RMSECV	0,65		0,70		0,60	0,61		0,15		0,11		
VALIDAÇÃO EXTERNA												
	GORDURA		PROTEÍNA		UMIDADE	E. SECO		CINZAS		pH		
	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV
17	28,1	27,0	22,5	23,8	44,0	44,1	56,1	55,9	3,83	3,96	5,68	5,46
18	28,2	29,1	26,5	25,4	40,5	41,1	59,5	58,9	4,01	3,81	5,54	5,54
19	28,2	28,9	23,6	24,1	43,3	42,5	56,7	57,6	4,11	3,96	5,4	5,44
20	29,3	29,7	24,0	25,6	41,2	42,0	58,8	58,0	3,94	3,93	5,36	5,27
21	28,7	28,7	24,4	24,4	41,2	41,7	58,8	58,3	4,21	4,23	5,29	5,27
Média	28,5a	28,7a	24,2b	24,7b	42,0c	42,3c	58,0d	57,7d	4,02e	3,98e	5,45f	5,40f
RMSEP	0,55		0,48		0,65	0,64		0,13		0,11		
ER (%) médio	1,92		1,95		1,44	1,02		2,59		1,37		

CM: centrado na média MSC: correção do espalhamento multiplicativo; S21: 21 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada; S5: 5 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada. Média dos parâmetros acompanhada de letras iguais na linha não tem diferença significativa (P<0,05).



Da mesma forma, o modelo orientado à determinação de cinzas apresentou um melhor desempenho que os modelos reportados por Ferrarini (2004), que objetivavam a avaliação de parâmetros nutricionais de milho por DRIFT.

Os resultados previstos no modelo para proteína foram similares aos obtidos por Morgano *et al.* (2005), utilizando espectros NIR por refletância difusa em café.

De maneira geral, foi possível observar que modelos MID e NIR apresentam um bom potencial de aplicação para a determinação individual dos parâmetros de interesse. Entretanto, a região do infravermelho próximo forneceu modelos mais robustos, proporcionando condições para uma análise rápida e confiável.

Com relação a aspectos mais práticos, relacionados à implementação de rotinas de controle, é importante destacar o significativo aumento na oferta de sistemas instrumentais compactos, orientados a aquisição de espectros na região do infravermelho próximo. A disponibilização deste tipo de instrumental, muitas vezes aparelhados com recursos de calibração multivariada, favorece o estabelecimento de rotinas fundamentadas neste tipo de proposta.

Os modelos de calibração acima mencionados e evidenciados foram avaliados por validação interna utilizando o sistema “leave one out” e as etapas do desenvolvimento são apresentadas nos itens subseqüentes.

#### 5.2.4.1 Determinação multivariada individual de gordura de queijo prato

O modelo para determinação de gordura na região NIR (6800 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) com pré-processamento de sinais centrado na média apresentou alto valor de variância explicada, igual a 99,89 para X e 93,37 para Y, utilizando 4 VL com erros de calibração, validação cruzada e previsão com maior ajuste em comparação aos modelos com maior número de VL (Figura 29).

Os “Loadings” apresentados na figura 30 indicam que a região do espectro com maior peso no desenvolvimento deste modelo, localiza-se entre 6800 e 6250  $\text{cm}^{-1}$  e 5550 e 4450  $\text{cm}^{-1}$ , regiões associadas a O-H.

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os maiores valores em regiões associadas a OH e valores pouco

menores associados a CH e relacionados com a propriedade de interesse (Figura 31).

A avaliação do resíduo de “Student” *versus* “Leverage” (Figura 32) apresentou valores inferiores a 2,5 e 0,75, respectivamente, indicando que não existem amostras anômalas nas condições estudadas. A amostra 13 apresenta-se deslocada a direita no gráfico apresentando alta influência no modelo, porém, não em razão do seu maior conteúdo de gordura em relação às outras amostras, mas ao menor teor de proteína.

Finalizando a avaliação dos dados de calibração obteve-se alta correlação entre os valores reais previstos pelo modelo (Figura 33) com valor de 0,97.

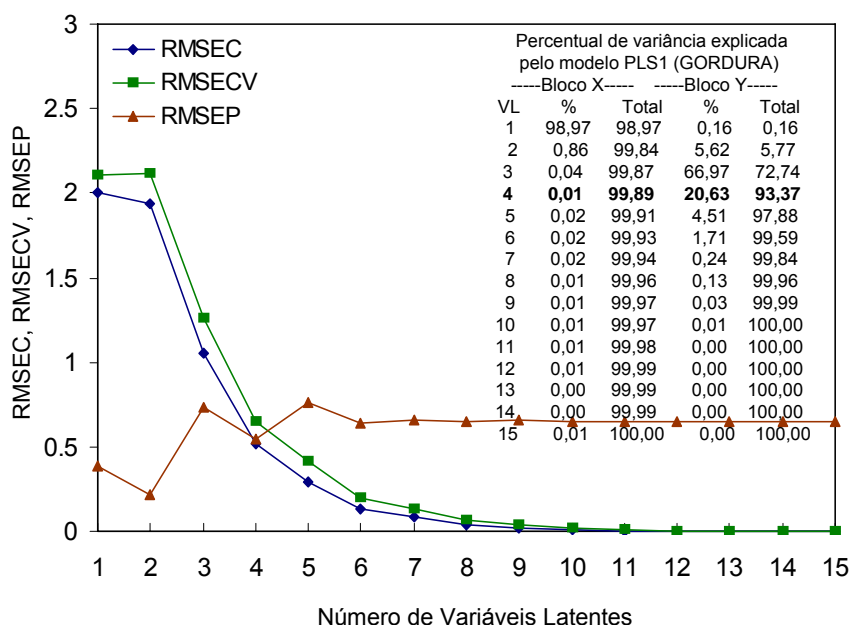


FIGURA 29 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC, RMSECV E RMSEP EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

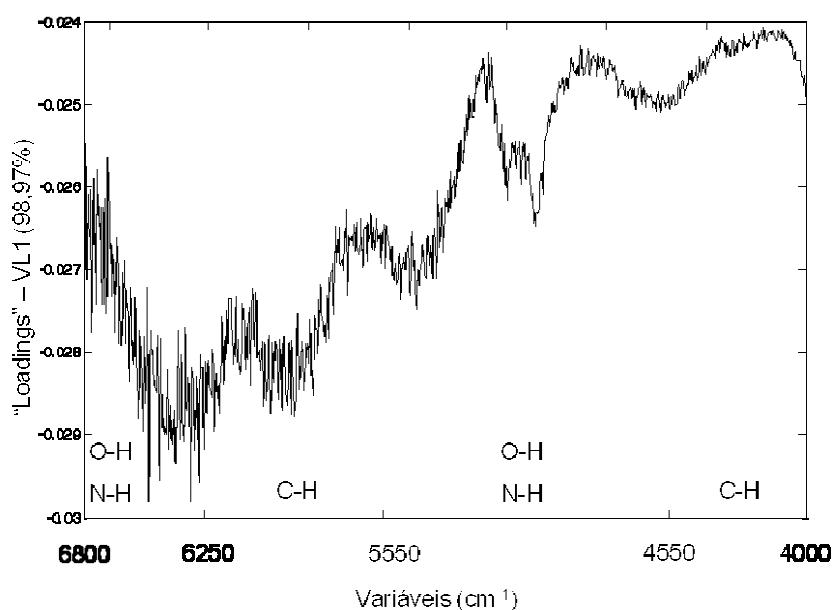


FIGURA 30 - “LOADINGS” DA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

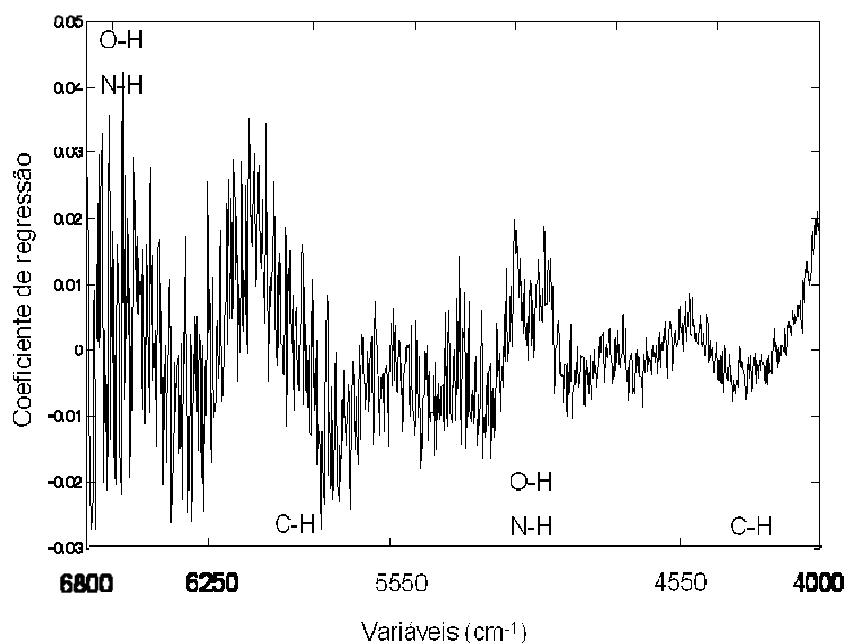


FIGURA 31 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

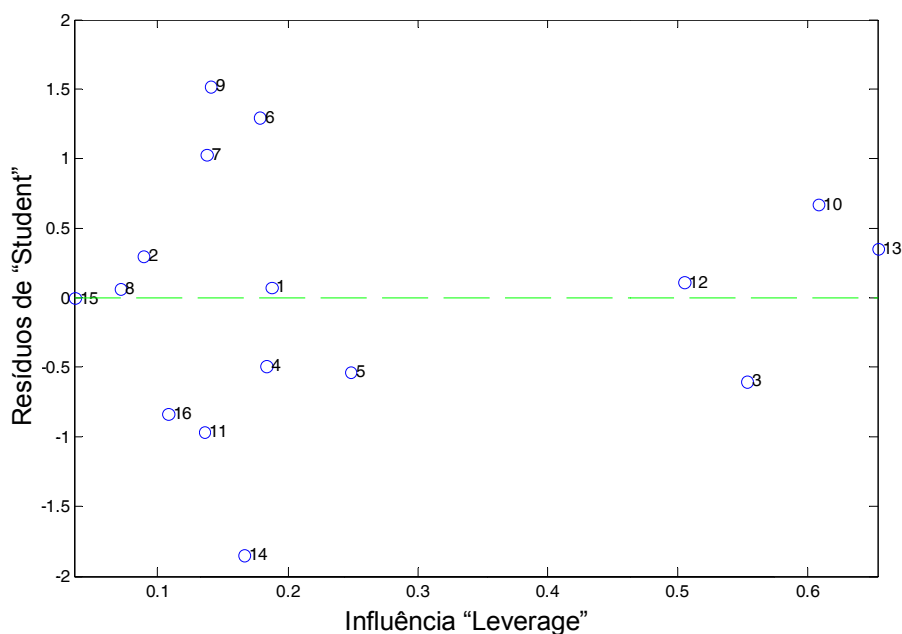


FIGURA 32 - RESÍDUOS DE "STUDENT" *VERSUS* "LEVERAGE" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

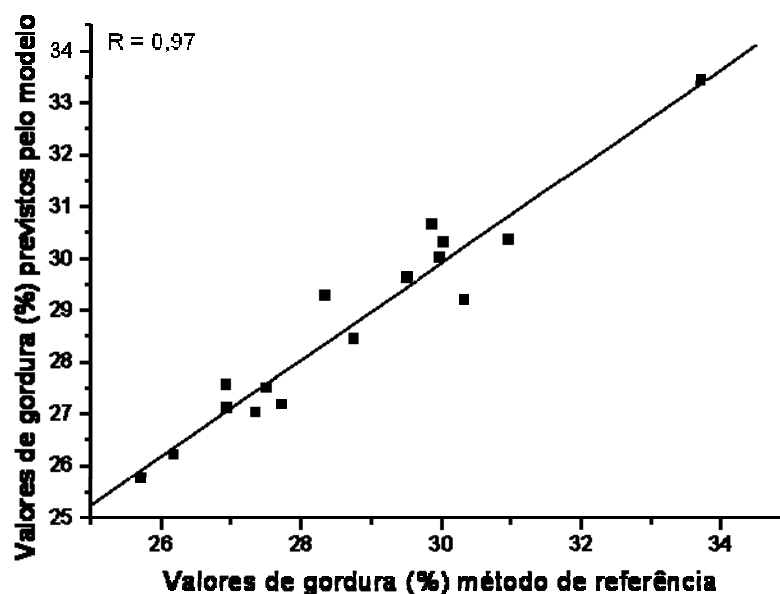


FIGURA 33 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), sem PRÉ-PROCESSAMENTO e 4 VL

#### 5.2.4.2 Determinação multivariada individual (PLS1) de proteína de queijo prato

O modelo para determinação de proteína na região NIR (6800 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) sem pré-processamento de sinais apresentou alto valor de variância explicada em X (99,90%) e Y (97,06), utilizando 4 VL com erros de calibração e validação mais ajustados comparado aos modelos contendo maior número de VL (Figura 34 ).

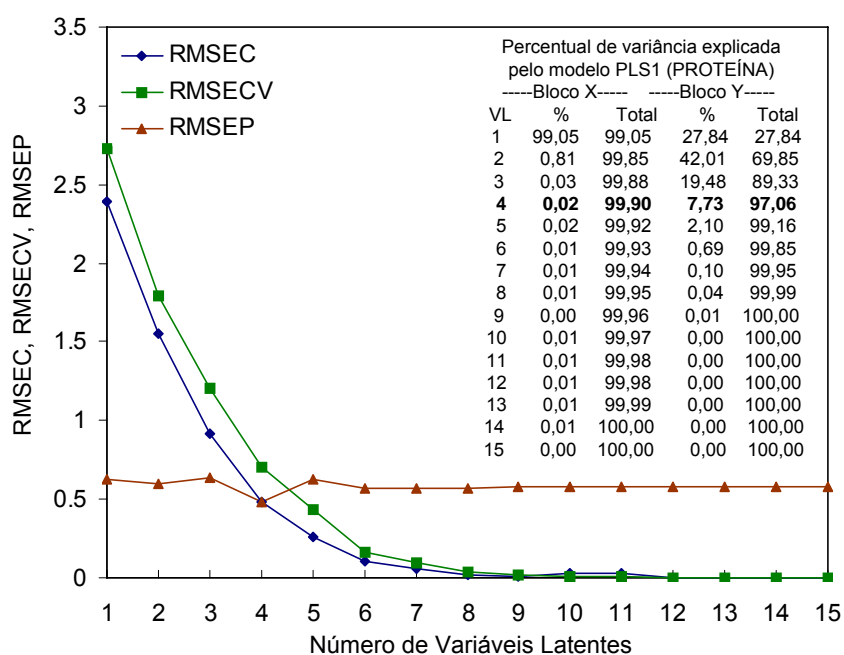


FIGURA 34 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

Os “Loadings” apresentados na Figura 35 indicam que a região do espectro com maior peso no desenvolvimento do modelo para proteína, localiza-se entre 6800 e 6250  $\text{cm}^{-1}$  e 5550 e 4550  $\text{cm}^{-1}$ , regiões associadas a N-H e ao parâmetro de interesse.

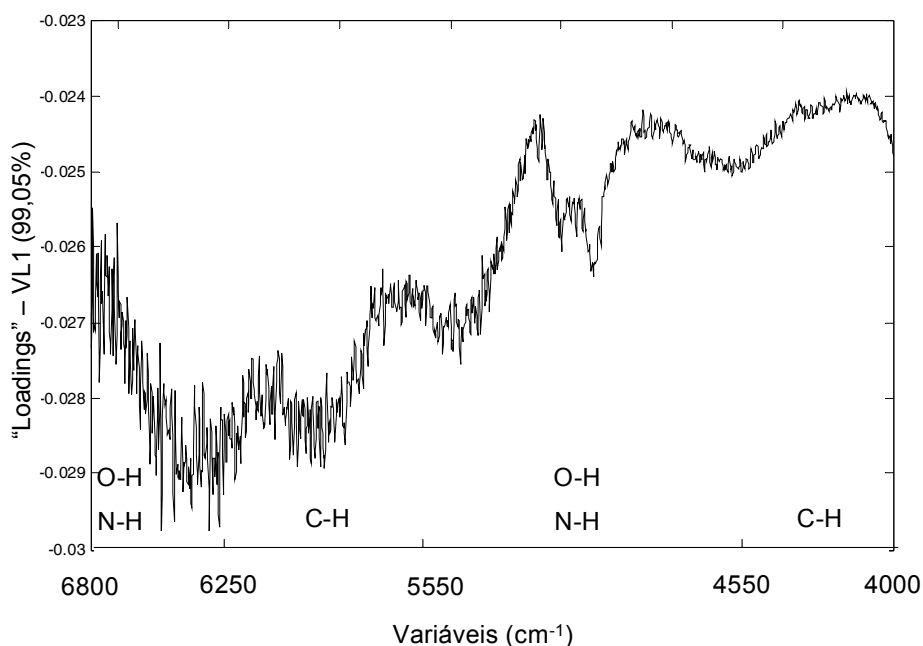


FIGURA 35 - “LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os valores bem evidenciados em regiões associadas a N-H e valores pouco menores associados a C-H e relacionados com a propriedade de interesse (Figura 36).

Os resíduos de “Student” *versus* “Leverage” (Figura 37) apresentaram valores inferiores a 2,5 e 0,75, respectivamente, indicando que não existem amostras anômalas nas condições estudadas para proteína. As amostras 13 e 10 apresentam-se deslocadas a direita no gráfico apresentando alta influencia no modelo, em razão dos menores teores de proteína em relação às outras amostras.

Obteve-se alta correlação entre dos valores reais pelos valores previstos pelo modelo de calibração de 0,99 (Figura 38).

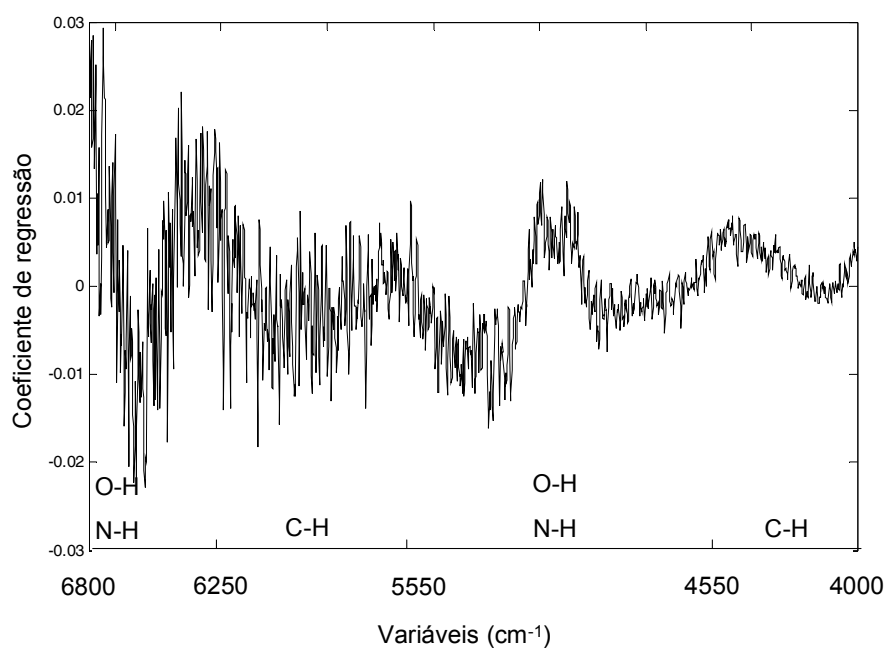


FIGURA 36 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

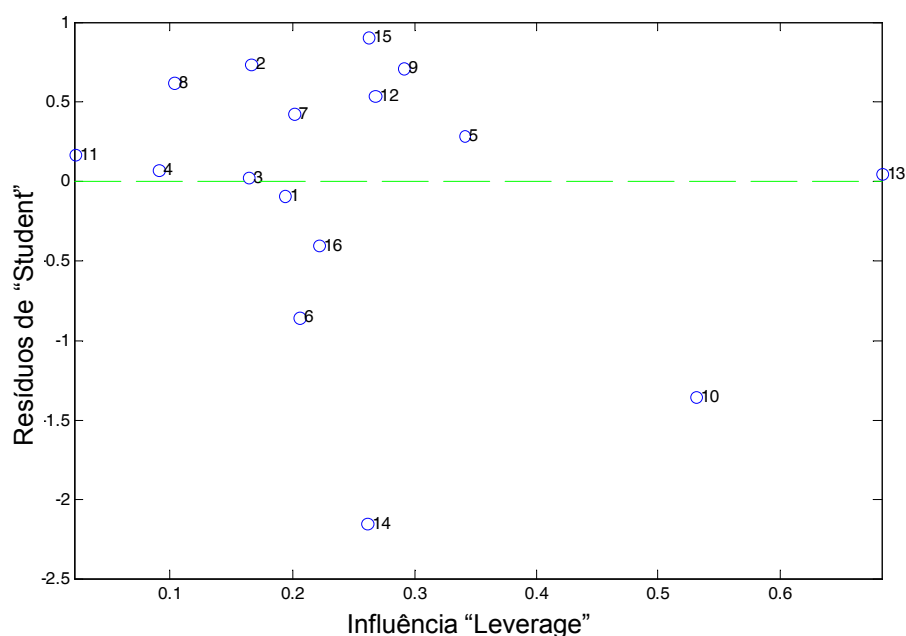


FIGURA37 - RESÍDUOS DE "STUDENT" *VERSUS* "LEVERAGE" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO E 4 VL

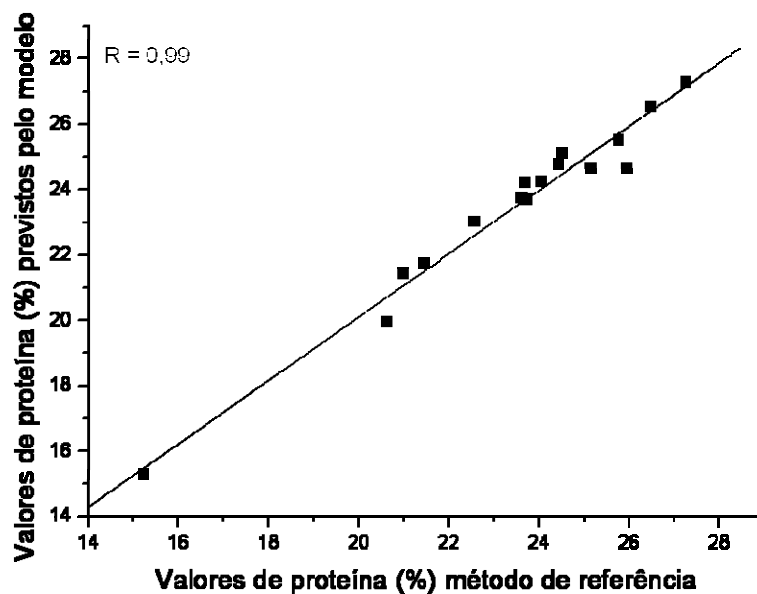


FIGURA 38 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), SEM PRÉ-PROCESSAMENTO e 4 VL

#### 5.2.4.3 Determinação multivariada individual (PLS1) de umidade de queijo prato

O modelo para determinação de umidade na região NIR (7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) com pré-processamento de sinais MSC apresentou alto valor variância explicada (99,73 para X e 99,98 para Y), utilizando 4 VL, com erros de calibração e validação mais ajustados e pouco diferentes daqueles formados com maior número de VL conforme apresentado na Figura 39.



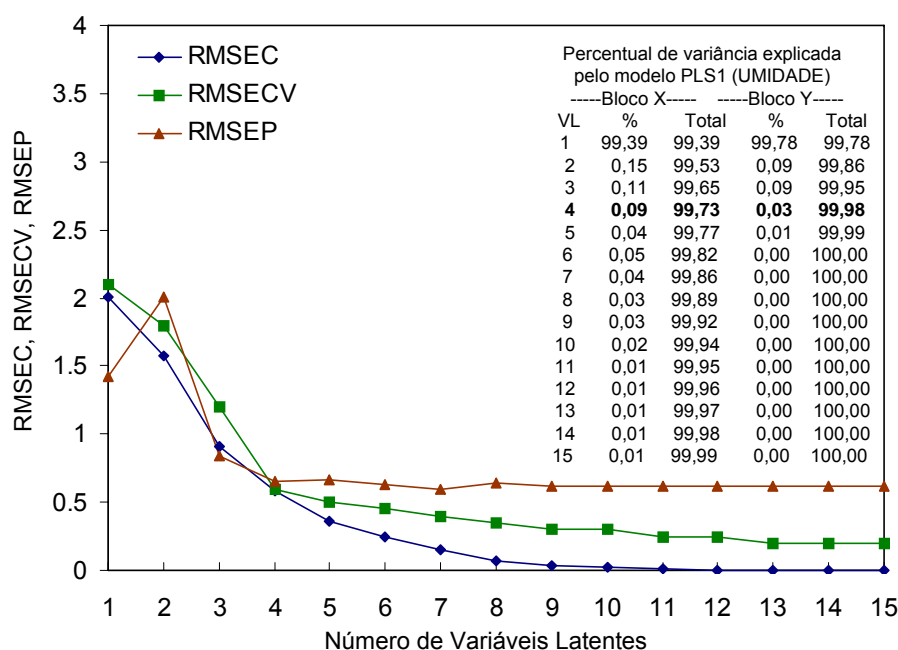


FIGURA 39 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

A região do espectro NIR com maior peso no desenvolvimento do modelo para umidade foi de 7500 a 7042  $\text{cm}^{-1}$  está apresentada no gráfico de “Loadings” na Figura 40. Este intervalo de frequência está associado a vibrações de grupos C-H, portanto, relacionado aos sólidos da amostra e indiretamente ao parâmetro de interesse, considerando que no método oficial de determinação de umidade obtém-se o valor de umidade indiretamente por cálculo na determinação de extrato seco.

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os valores bem evidenciados em regiões associadas a C-H relacionados de forma direta com a propriedade de interesse (Figura 41).

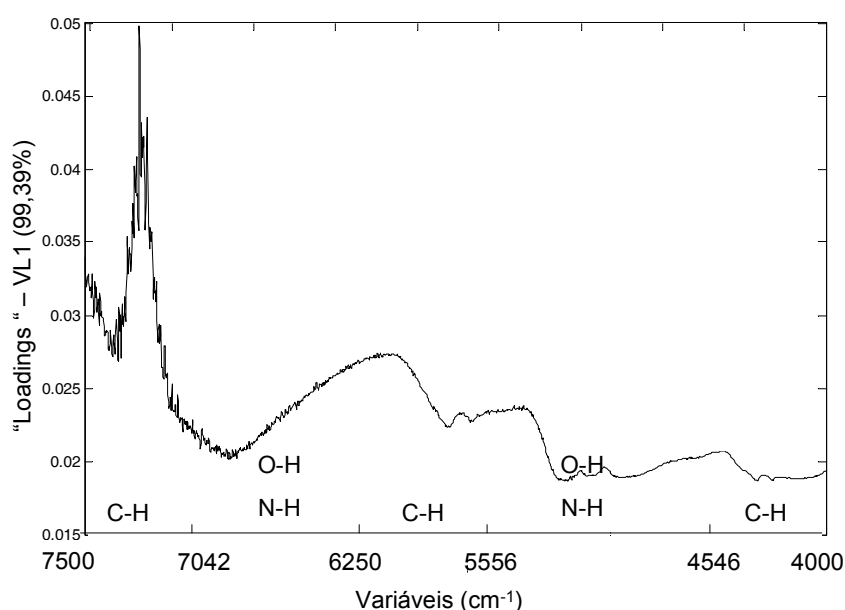


FIGURA 40 - "LOADINGS" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

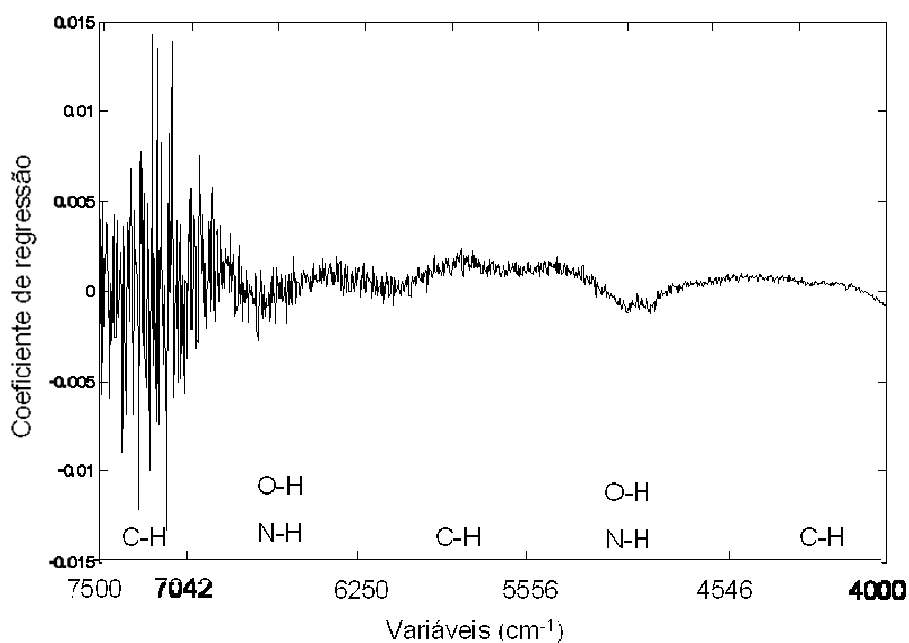


FIGURA 41 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

Não houve a presença de amostras anômalas, fato que pode ser visualizado no gráfico de resíduos de “Student” *versus* “Leverage” (Figura 42) com valores inferiores a 2,5 e 0,75. As amostras 3 e 16 apresentam-se deslocadas a direita do gráfico apresentando alta influencia no modelo, a amostra 3 se caracteriza pelo seu menor conteúdo de umidade em relação às outras amostras, enquanto, a amostra 16, tem umidade próxima aos valores médios.

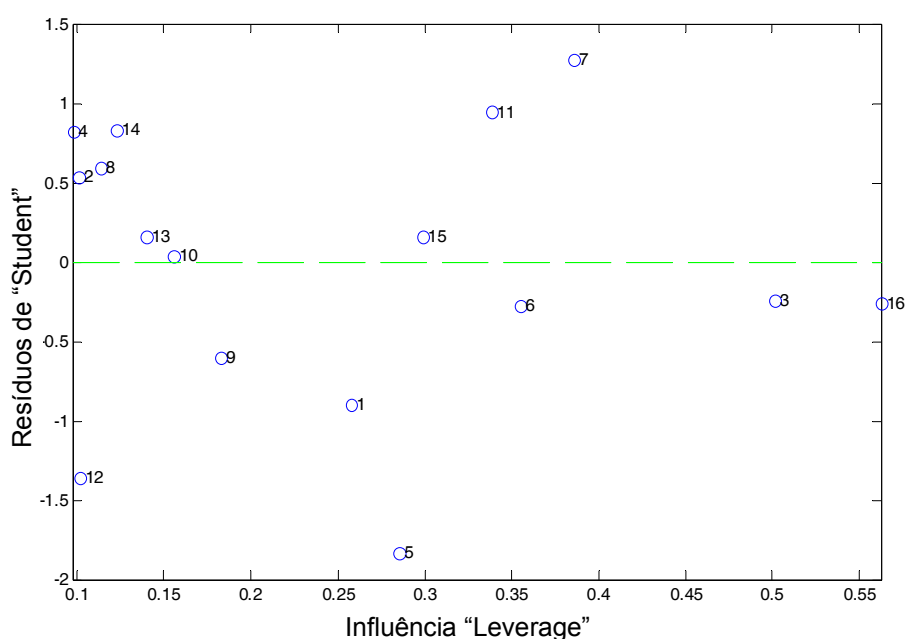


FIGURA 42 - RESÍDUOS DE “STUDENT” *VERSUS* “LEVERAGE” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

Obteve-se alta correlação de 0,96 entre dos valores reais e previstos pelo modelo de calibração (Figura 43).

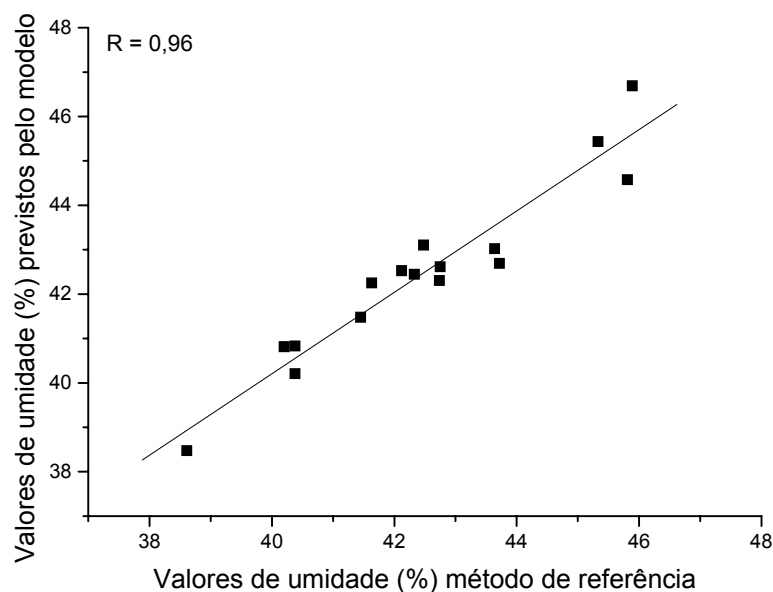


FIGURA 43 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE UMIDADE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

#### 5.2.4.4 Determinação multivariada individual de extrato seco de queijo prato

O modelo para determinação de extrato seco na região NIR (7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) com pré-processamento de sinais MSC apresentou respostas similares ao modelo para umidade com alto valor variância explicada (99,73 para X e 99,99 para Y), utilizando 4 VL com erros de calibração e validação mais ajustados e pouco diferentes daqueles com maior número de VL conforme apresentado na Figura 44.

A região do espectro NIR com maior peso no desenvolvimento do modelo para umidade foi de 7500 a 7042  $\text{cm}^{-1}$  está apresentada no gráfico de “Loadings” na Figura 45. Este intervalo de frequência está associado a vibrações de grupos C-H, portanto, relacionado aos sólidos da amostra (extrato seco).

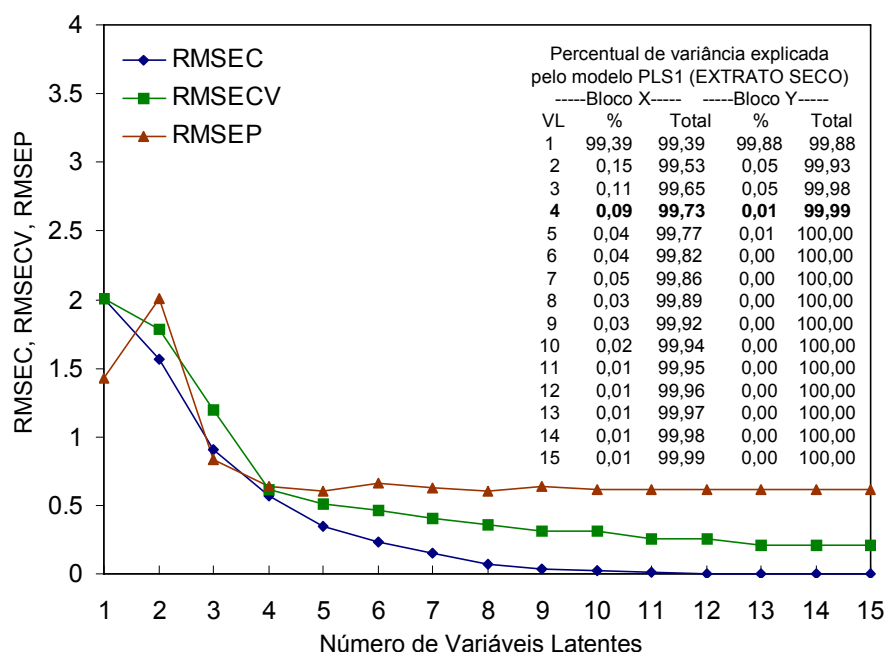


FIGURA 44 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO ( $7500 \text{ A } 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL.

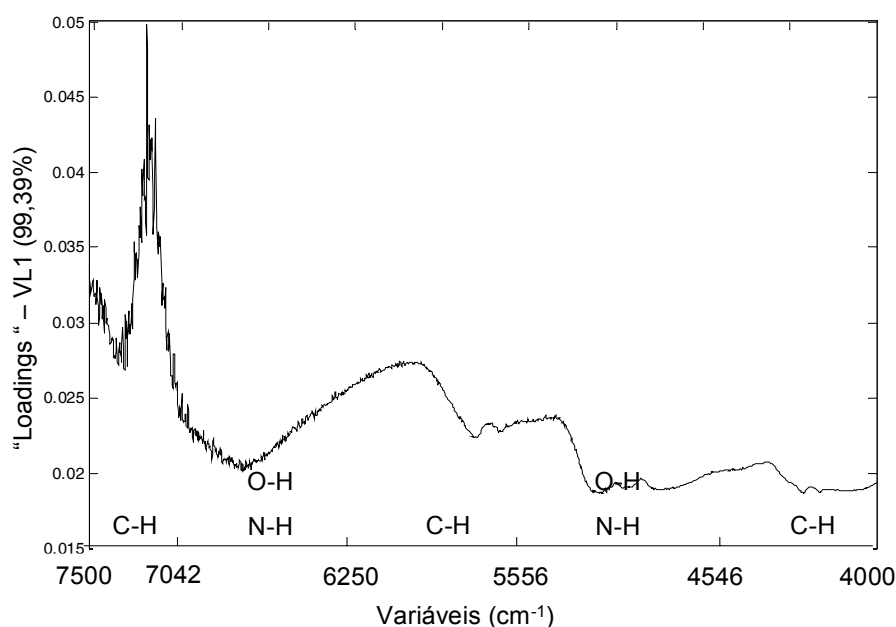


FIGURA 45 - "LOADINGS" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO ( $7500 \text{ A } 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os valores bem evidenciados em regiões associadas a C-H correlacionando-se de forma direta com a propriedade de interesse (Figura 46).

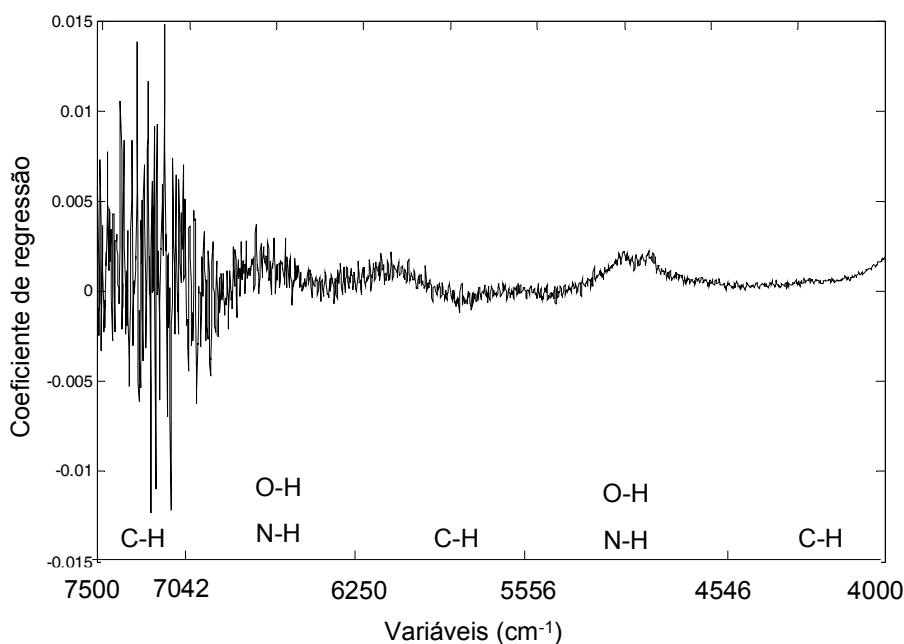


FIGURA 46 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE E. SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

Não houve a presença de amostras anômalas, fato que pode ser visualizado no gráfico de resíduos de “Student” versus “Leverage” (Figura 47) com valores inferiores a 2,5 e 0,75. Salienta-se que a distribuição das amostras neste gráfico é inversa a distribuição das amostras no modelo de determinação de umidade a semelhança de suas propriedades físico-químicas. A amostra 3 apresenta o maior teor de extrato seco e amostra 16 teores próximos a média e, ambas apresentam-se deslocadas a direita do gráfico, indicando alta influência no modelo frente às outras amostras.

Obteve-se alta correlação (0,96) entre os valores reais e previstos pelo modelo de calibração (Figura 48).

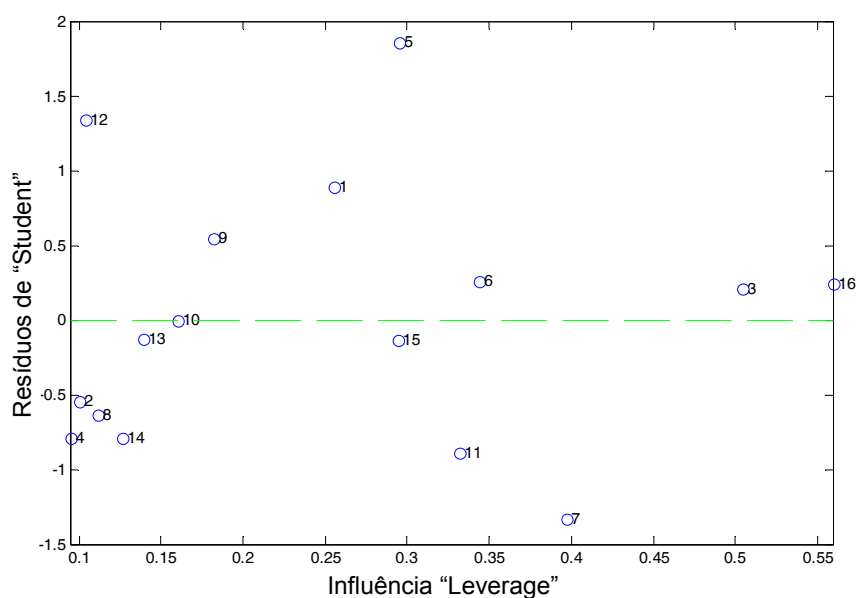


FIGURA 47 - RESÍDUOS DE "STUDENT" *VERSUS* "LEVERAGE" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO ( $7500 \text{ A } 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

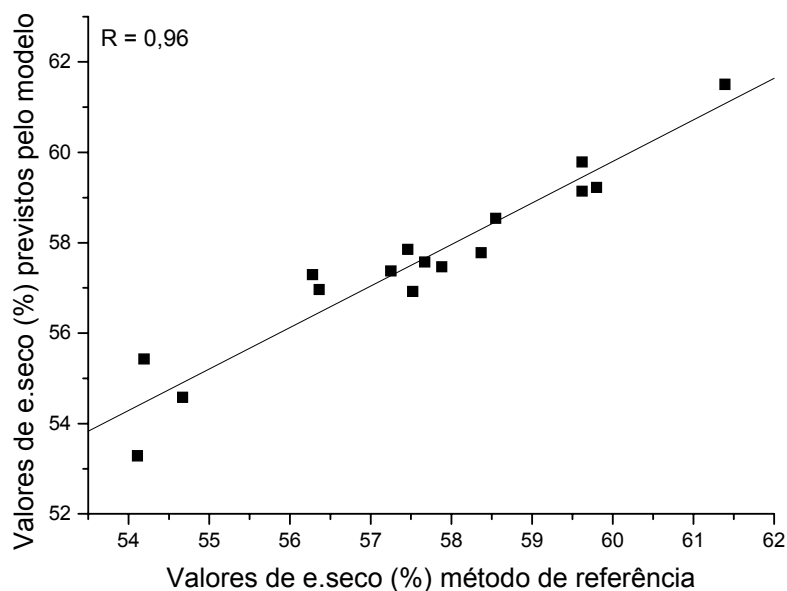


FIGURA 48 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE EXTRATO SECO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO ( $7500 \text{ A } 4000 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO MSC E 4 VL

#### 5.2.4.5 Determinação multivariada individual (PLS1) de cinzas de queijo prato

O modelo desenvolvido para a determinação de cinzas na região NIR (7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) e com pré-processamento de sinais S21, apresentou valor de variância explicada de 86,86 para X e 88,87 para Y, utilizando 4 VL e erros de calibração e validação mais ajustados em relação aqueles com maior número de VL, conforme apresentado na Figura 49.

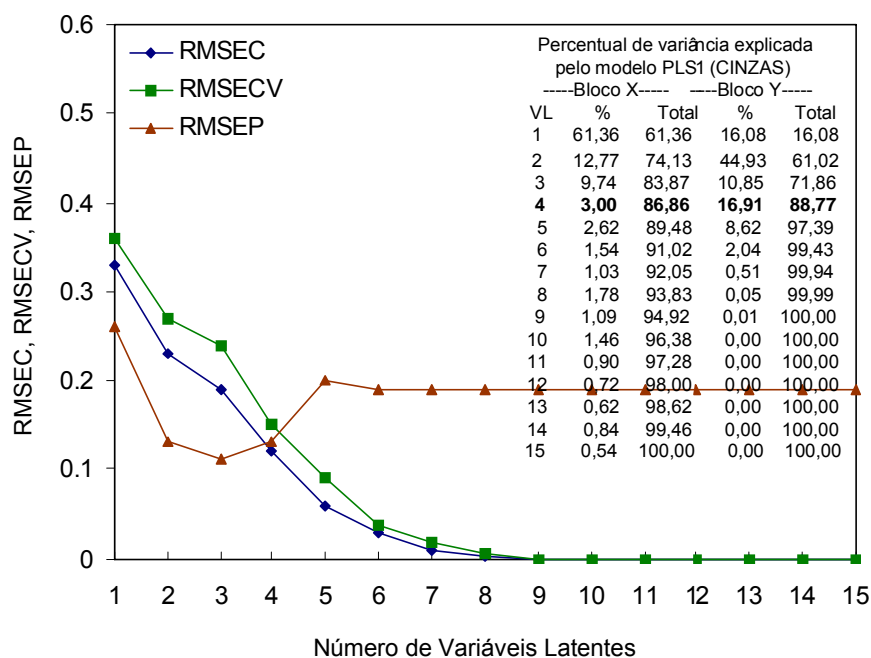


FIGURA 49 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL

A região do espectro NIR com maior peso no desenvolvimento do modelo para umidade foi de 7500 a 7042  $\text{cm}^{-1}$ , sendo representada no gráfico de “Loadings” na Figura 50. Este intervalo de frequência está associado a vibrações de grupos C-H.



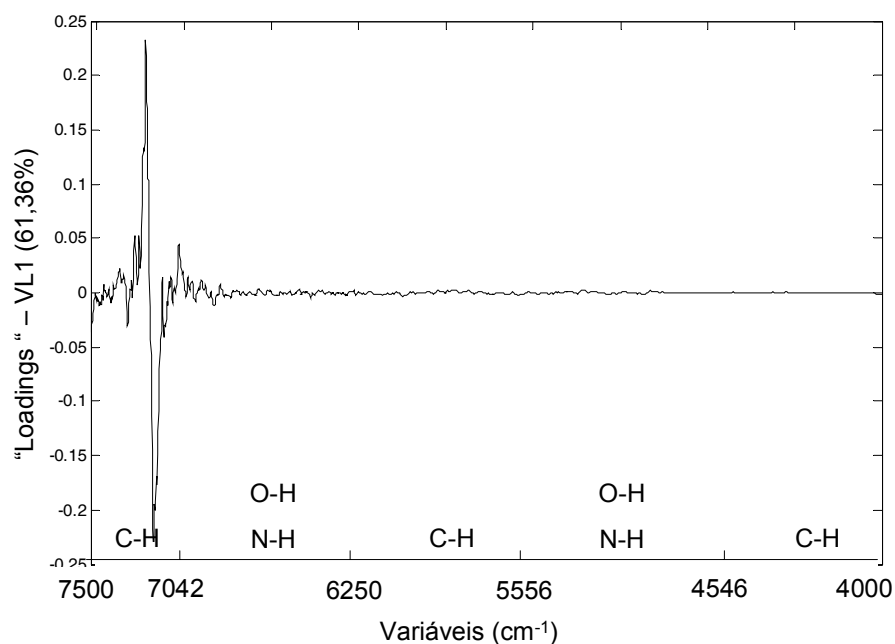


FIGURA 50 - “LOADINGS” PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os valores bem evidenciados em regiões associadas a C-H (Figura 51). Essa correlação é extremamente positiva, considerando que o resíduo mineral fixo (cinzas) é parcela do extrato seco total e no caso do queijo está associado ao cálcio proveniente do complexo paracaseinato de cálcio, conforme apresentado por Guinee *et al.* (2002).

Não houve a presença de amostras anômalas, fato que pode ser visualizado no gráfico de resíduos de “Student” *versus* “Leverage” (Figura 52) com valores inferiores a 2,5 e 0,75.

Finalizando a avaliação dos dados de calibração para determinação de cinzas obteve-se alta correlação entre dos valores reais e previstos pelo modelo (Figura 53), com valor de 0,94.

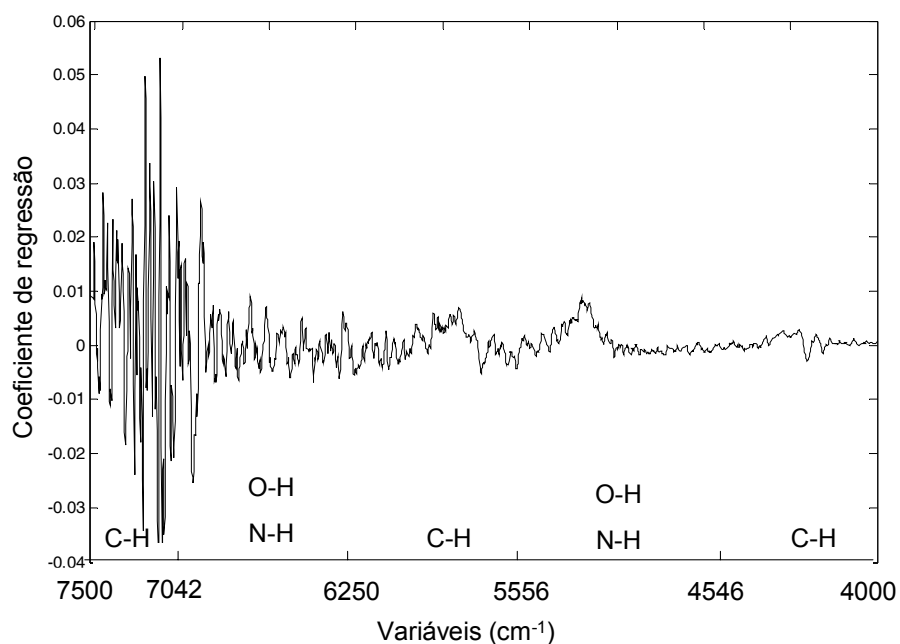


FIGURA 51 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE E. SECO NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL

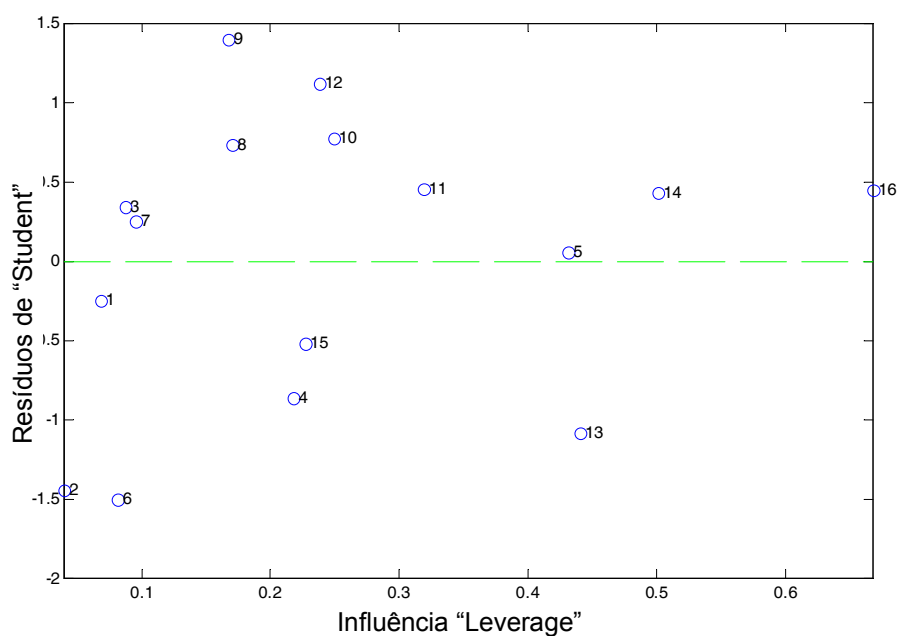


FIGURA 52 - RESÍDUOS DE "STUDENT" *VERSUS* "LEVERAGE" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRATERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL

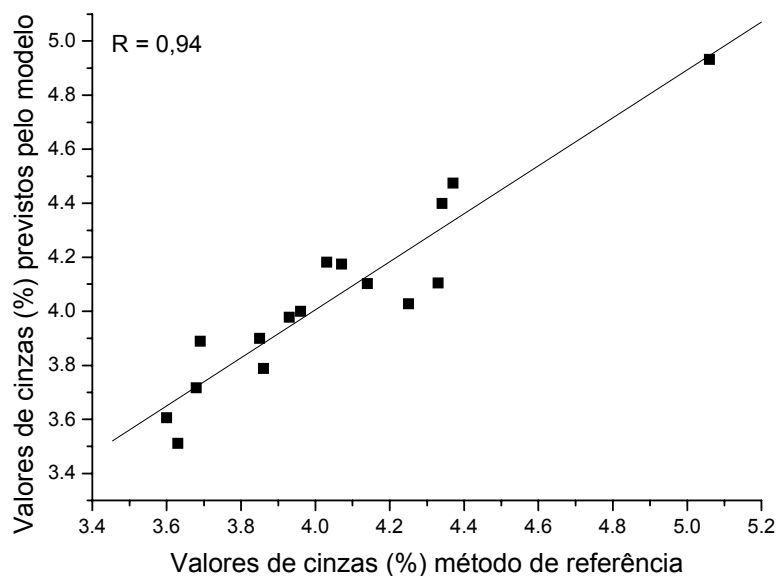


FIGURA 53 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE CINZAS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S21 E 4 VL

#### 5.2.4.6 Determinação multivariada individual (PLS1) de pH

O modelo para determinação de pH na região MID (7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) com pré-processamento de sinais MSC apresentou alto valor de variância explicada para X (98,29%) e Y (96,25), utilizando 6 VL, com erros de calibração e validação ajustados e pouco diferentes daqueles com maior número de VL conforme apresentado na Figura 54 .

A região do espectro MID com maior peso no desenvolvimento do modelo para pH foi de 1650 a 1520  $\text{cm}^{-1}$ , representada no gráfico de “Loadings” na Figura 55. Este intervalo de frequência está associado a vibrações de grupos N-H, provavelmente relacionado ao parâmetro de interesse, considerando que durante o período de maturação ocorre um aumento do pH dos queijos, com conseqüente aumento da atividade das proteases bacterianas e naturais do leite (GRAPPIN; RANK; OLSON, 1985) e degradação das frações de caseína (SCHULZ, 2003).

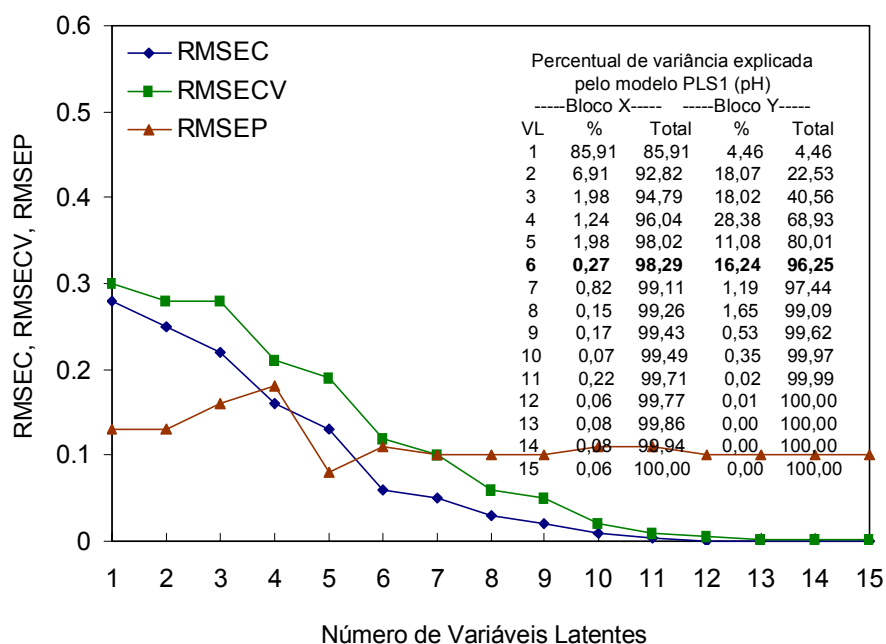


FIGURA 54 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO ( $4000 \text{ A } 1520 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL

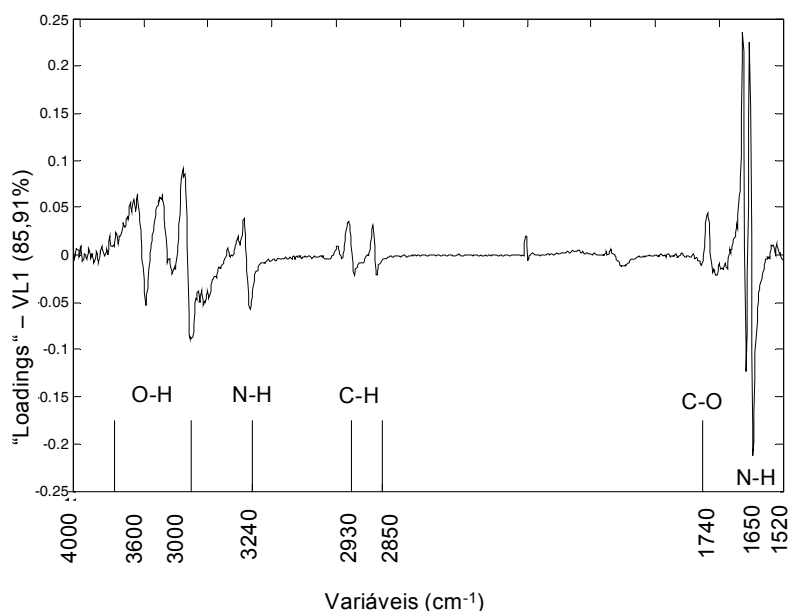


FIGURA 55 - "LOADINGS" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO ( $4000 \text{ A } 1520 \text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL

O coeficiente de regressão do modelo de calibração para o vetor Y apresentou os valores bem evidenciados em regiões associadas à OH ( $3600$  a  $3000\text{ cm}^{-1}$ ) e N-H ( $1560$  a  $1520\text{ cm}^{-1}$ ) (Figura 56), correlacionadas com grupos químicos de interesse na determinação de pH.

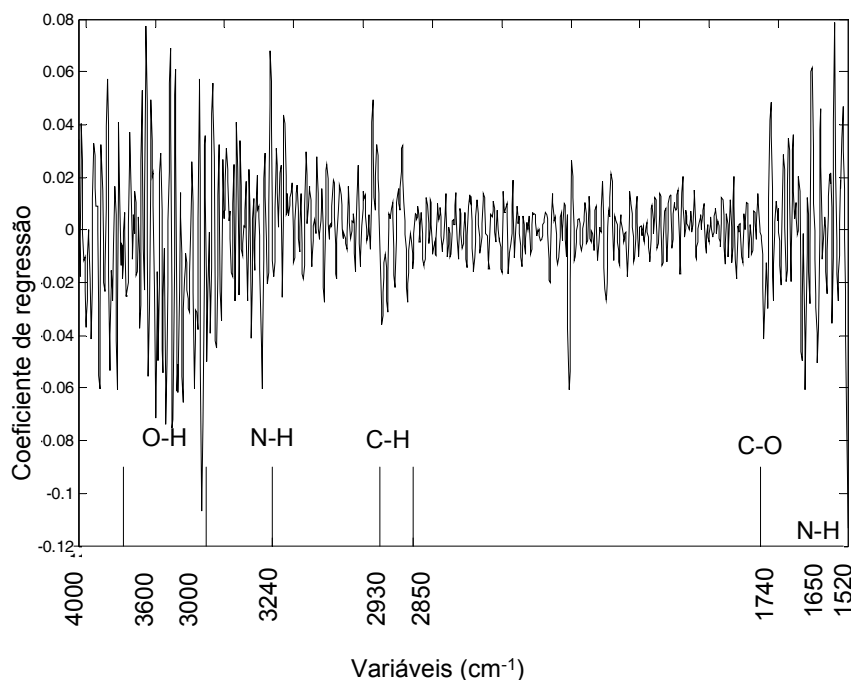


FIGURA 56 - COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO ( $4000$  A  $1520\text{ cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL

O gráfico de resíduos de “Student” *versus* “Leverage” (Figura 57) apresenta as amostras distribuídas com valores inferiores a 2,5 e 0,75, indicando ausência de amostras anômalas.

Finalizando a avaliação dos dados de calibração para determinação de pH obteve-se alta correlação entre os valores reais e valores previstos pelo modelo (Figura 58), com valor de 0,98.

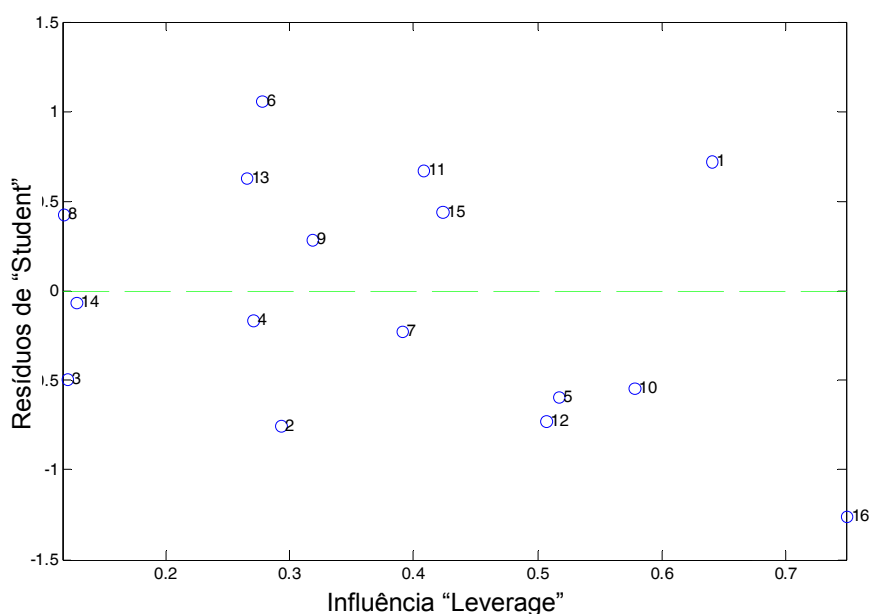


FIGURA 57 - RESÍDUOS DE "STUDENT" *VERSUS* "LEVERAGE" PARA O MODELO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (4000 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL

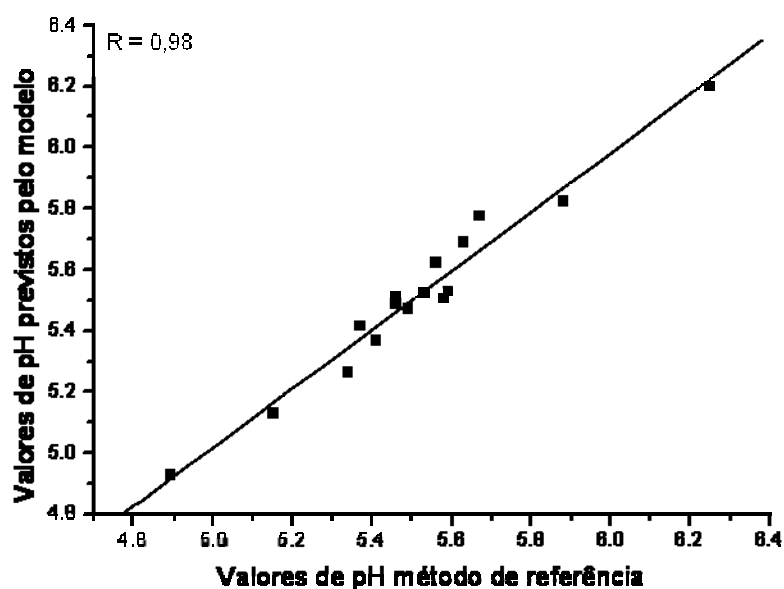
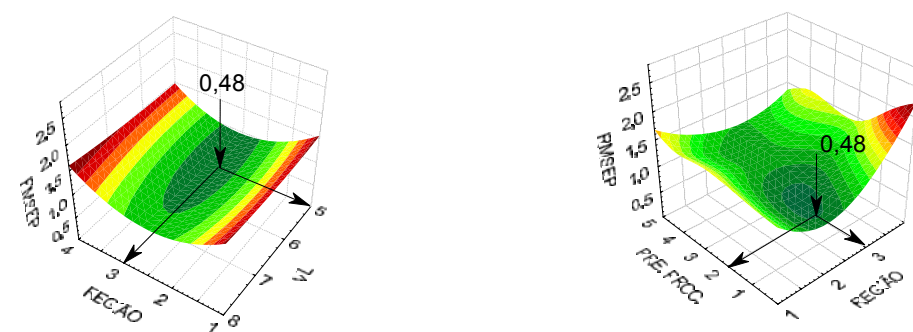


FIGURA 58 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO DE CALIBRAÇÃO INDIVIDUAL MULTIVARIADO DE DETERMINAÇÃO DE pH NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (4000 A 1520  $\text{cm}^{-1}$ ), PRÉ-PROCESSAMENTO S5 E 6 VL

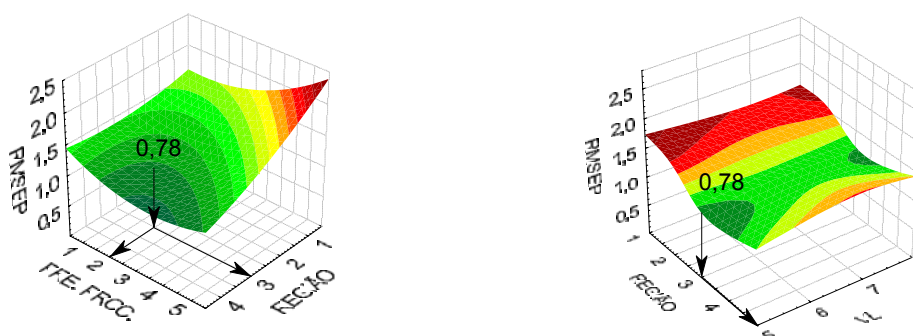
### 5.2.5 Determinação multivariada simultânea (PLS2) de parâmetros físico-químicos de queijo prato

Para determinação simultânea dos parâmetros físico-químicos de queijo prato, inúmeros modelos preliminares foram desenvolvidos, a semelhança dos individuais, objetivando selecionar a melhor região espectral, o melhor sistema de pré-processamento de sinais e o melhor número de variáveis latentes. De forma resumida, estes resultados são apresentados nas Figuras 59 e 60, nas quais se relaciona o RMSEP com a região espectral e o número de variáveis latentes (figura esquerda) e com a região espectral e o sistema de pré-processamento (figura direita).

A capacidade preditiva dos modelos foi avaliada por validação externa, utilizando-se 5 amostras que não fizeram parte do processo de modelagem. Para determinação do teor de gorduras, proteínas, umidade, extrato seco e cinzas os melhores modelos de calibração foram conseguidos na região do infravermelho próximo ( $7500$  a  $4000\text{ cm}^{-1}$ ), com a utilização de pré-processamentos S3 (Figura 59 e 60). Utilizando-se 5 VL os modelos demonstraram boa capacidade preditiva, permitindo erros de previsão inferiores a 5 % (Tabela 7).



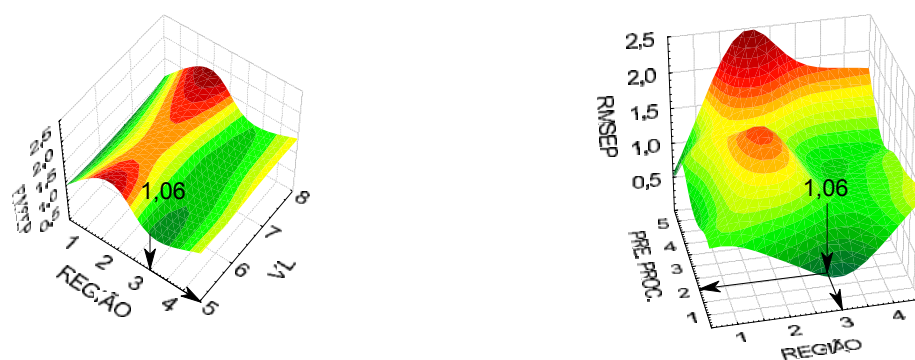
A (gordura)



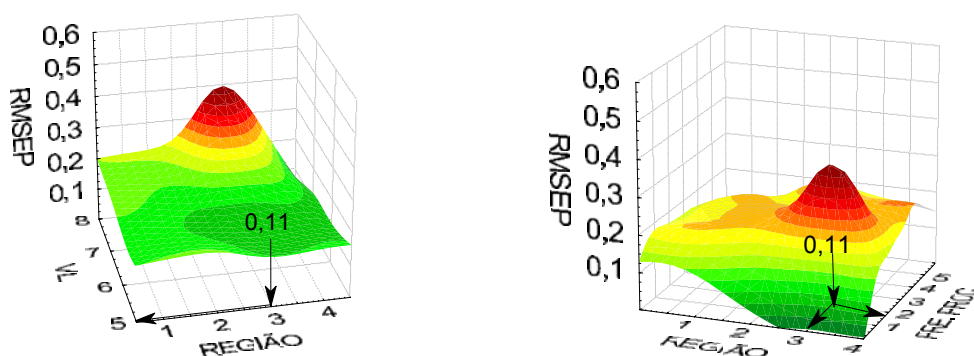
B (proteína)

FIGURA 59 - EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA (A), PROTEÍNAS (B). REGIÃO: (1) 1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 A 6800  $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 A 3760 E 4000 A 7500  $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4): MSC E ALISAMENTO





A (umidade e extrato seco)



B (cinzas)

FIGURA 60 - EFEITO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, DA REGIÃO ESPECTRAL PROCESSADA E DOS TIPOS DE PRÉ-PROCESSAMENTO DE SINAIS NA CAPACIDADE PREDITIVA DOS MODELOS PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DE UMIDADE E EXTRATO SECO (A); CINZAS (B). REGIÃO: (1) 1520 a 3760  $\text{cm}^{-1}$ ; (2) 4000 a 6800  $\text{cm}^{-1}$ ; (3) 4000 a 7500  $\text{cm}^{-1}$ ; (4) 1520 a 3760 e 4000 a 7500  $\text{cm}^{-1}$ . PRÉ-PROCESSAMENTO: (1) CENTRADO NA MÉDIA; (2) ALISADO E DERIVADO; (3) MSC; (4) MSC E ALISAMENTO

TABELA 7 - RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (7500 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ ), COM DIFERENTES PRÉ-PROCESSAMENTOS

PARÂMETROS	GORDURA		PROTEÍNA		UMIDADE		E. SECO		CINZAS		
MODELAGEM											
Região espectral	4000 a 7500 cm <sup>-1</sup>										
Matriz	Mqp16										
Pré-processamento	S3										
VL	5										
Variância explic. (%X)	69,51										
Variância explic. (%Y)	95,44										
CALIBRAÇÃO											
Leverage máximo	0,93										
Anomalias	0										
RMSEC	0,44		0,48		0,48		0,47		0,22		
RMSECV	0,61		0,63		0,65		0,65		0,33		
Rcal	0,98		0,99		0,97		0,97		0,78		
VALIDAÇÃO EXTERNA											
	GORDURA		PROTEÍNA		UMIDADE		E. SECO		CINZAS		
AMOSTRA	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	REAL	PREV	
17	28,1	27,6	22,5	23,6	44,0	43,3	56,1	56,7	3,83	3,98	
18	28,2	30,1	26,5	25,4	40,5	41,8	59,5	58,2	4,01	3,83	
19	28,2	28,4	23,6	23,8	43,3	41,8	56,7	58,3	4,11	4,15	
20	29,3	29,3	24,0	24,7	41,2	42,3	58,8	57,7	3,94	4,01	
21	28,7	29,7	24,4	23,9	41,2	41,3	58,8	58,7	4,21	4,25	
Média	28,5a	29,0a	24,2b	24,3b	42,0c	42,1c	58,0d	57,9d	4,02e	4,04e	
RMSEP	0,48		0,78		1,06		1,06		0,11		
ER (%) médio	2,61		2,94		2,24		1,62		2,42		

S3: 3 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada.

Na Figura 61 é apresentada a evolução do RMSEC, RMSECV e RMSEP em função do número de variáveis latentes. De maneira geral, foi observado que o menor valor de RMSEC e RMSECV é conseguido com número de variáveis latentes (VL), normalmente de 10 a 15. Entretanto, foi também verificado que a variância representada a partir da oitava VL é pouco significativa para o bloco Y, assim como

os ganhos em capacidade de previsão (Figura 61). Por este motivo, e visando evitar a criação de modelos superajustados, que normalmente apresentam pouca robustez, foi decidido desenvolver modelos utilizando-se 5 a 8 VL.

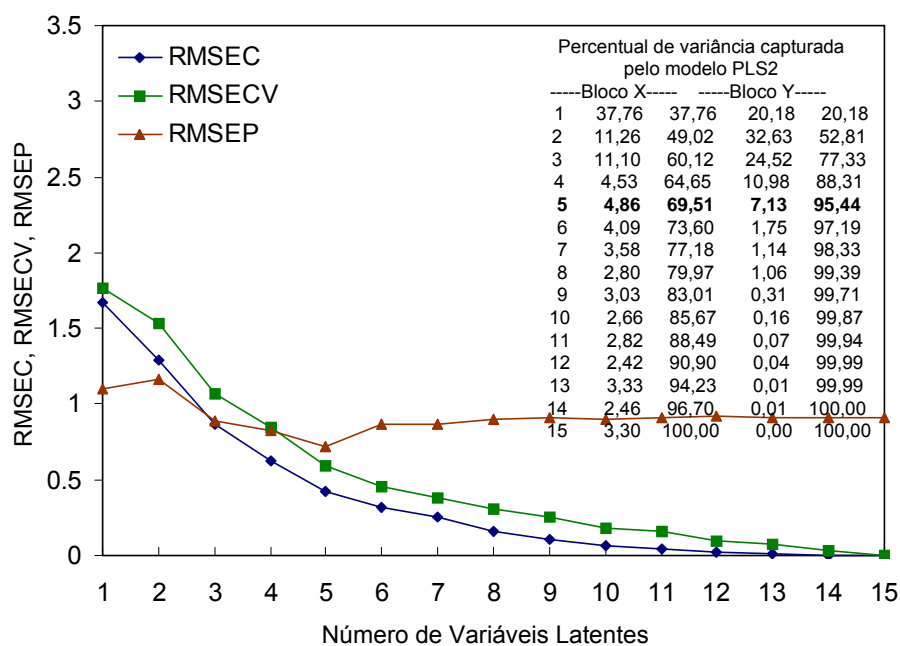


FIGURA 61 - PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA, VALORES MÉDIOS DE RMSEC, RMSECV E RMSEP EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES, PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3

Os Loadings apresentados na Figura 62 reproduzem os dados espectrais das amostras, indicando os maiores pesos nas regiões associadas a C-H, N-H e OH.

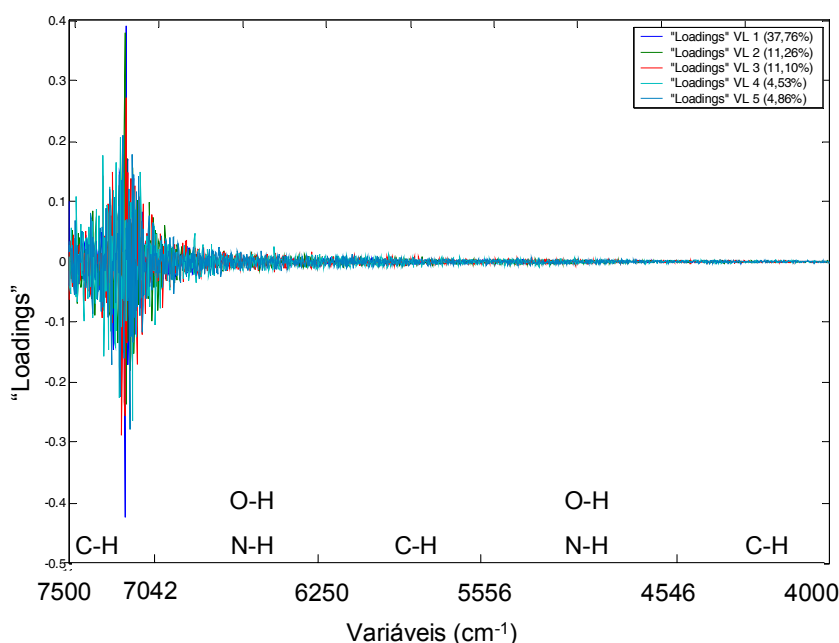


FIGURA 62 - “LOADINGS” PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3

Os coeficientes de regressão (Figuras 63), obtidos com 5 VL, indicam que praticamente toda a região monitorada se correlaciona adequadamente com a concentração do parâmetro monitorado. As regiões de maior correlação, entretanto, localizam-se principalmente entre as variáveis (7500-6250  $\text{cm}^{-1}$ ) que são sinais específicos associados a vibrações de grupos C-H, N-H e OH (PASQUINI, 2003 e 2006), sendo que as bandas de absorção em 6800-6300  $\text{cm}^{-1}$  (REALINI; DUCKETT; WINDHAM, 2004) e 7142,9  $\text{cm}^{-1}$  foram associadas à OH, relacionada à presença de água (MURRAY, 1986).

Os correlogramas correspondentes aos modelos para umidade e extrato seco indicam muito bem a relação inversa associada às concentrações desses parâmetros.

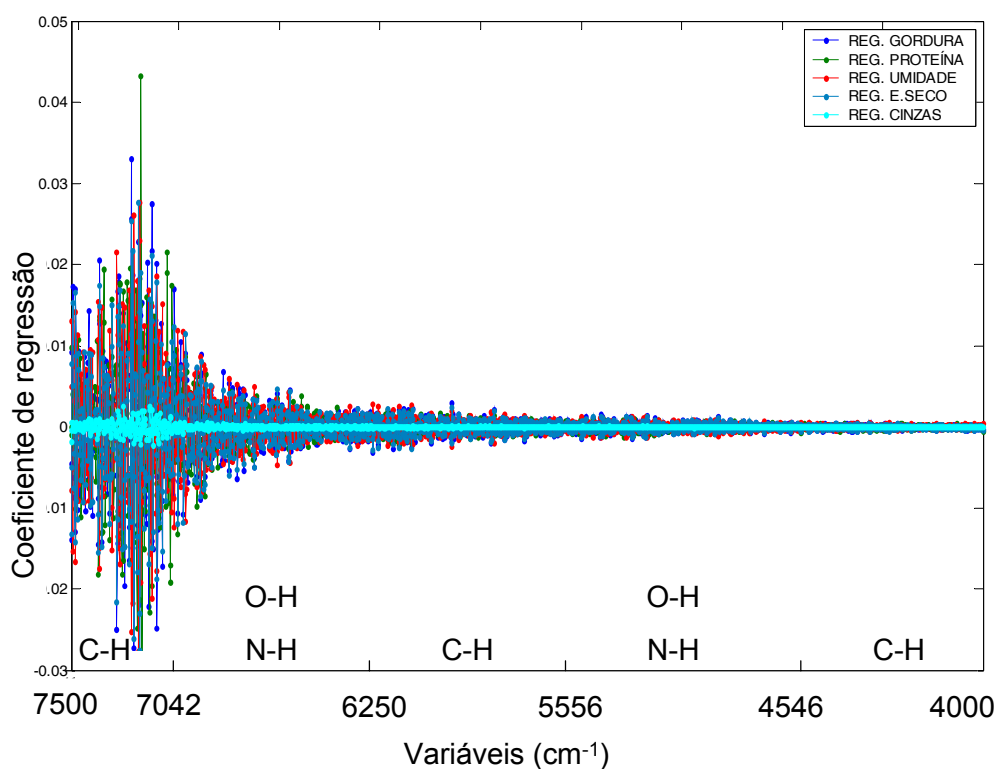
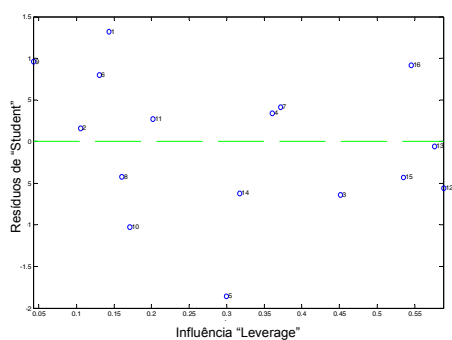
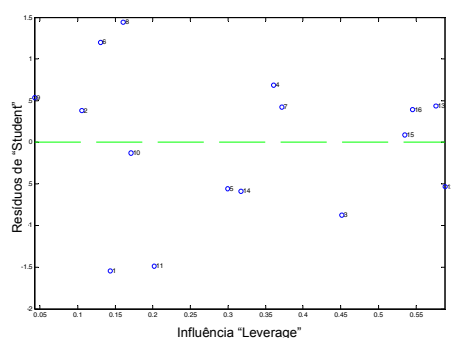
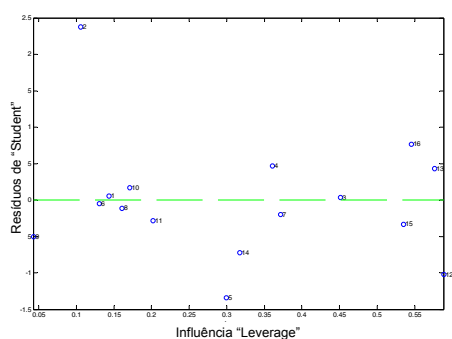
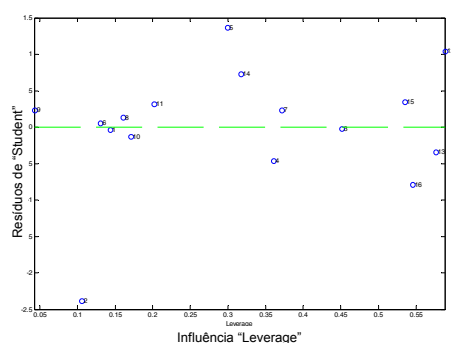
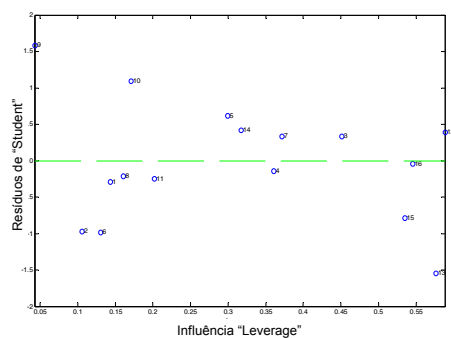


FIGURA 63 - COEFICIENTES DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE QUEIJO PRATO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3

Os resíduos de “students” e o “leverage” (Figura 64) demonstram que os conjuntos de calibração são homogêneos, sem amostras anômalas.

O modelo conseguiu reproduzir a concentração dos padrões de calibração com boa aproximação, representado por excelentes coeficientes de correlação (Figura 65) entre os valores reais e os valores previstos para gordura e proteínas ( $R_{\text{cal}}$ : 0,98 e 0,99), para umidade e extrato seco (0,97), e aceitável para cinzas (0,78) (Figura 66).

**A (gordura)****B (proteína)****C (umidade)****D (e. seco)****E (cinzas)**

**FIGURA 64 - RESÍDUOS DE “STUDENT” VERSUS “LEVERAGE” PARA O MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA, PROTEÍNA, UMIDADE, E. SECO E CINZAS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3**

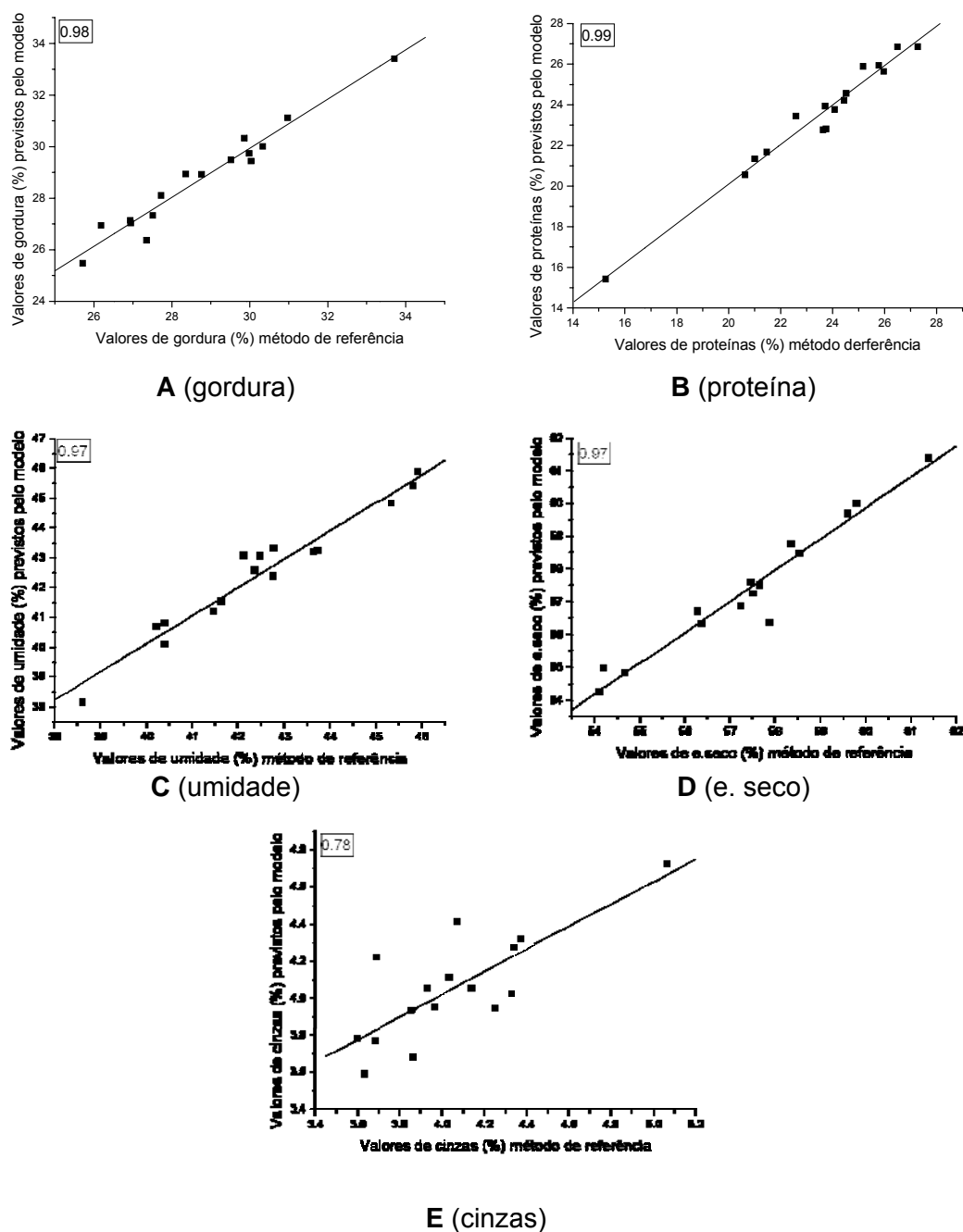


FIGURA 65 - COEFICIENTE DE CORRELAÇÃO ENTRE VALORES REAIS E PREVISTOS NO MODELO PLS2 DE DETERMINAÇÃO DE GORDURA, PROTEÍNA, UMIDADE, E. SECO E CINZAS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (7500 A 4000  $\text{cm}^{-1}$ ) COM PRÉ-PROCESSAMENTO S3

### 5.2.6 Caracterização das diferentes frações nitrogenadas de queijo prato

Os resultados das análises físico-químicas orientadas a quantificar as diferentes frações nitrogenadas (nitrogênio total, nitrogênio solúvel em pH 4,6, nitrogênio solúvel em TCA 12%) das amostras de queijo prato são apresentados na Tabela 8. A partir destes valores, foram calculados os parâmetros de proteólise apresentados na Tabela 9.

Em primeiro lugar, é pertinente salientar que, embora obtidos a partir de procedimentos relativamente complexos, os resultados das frações nitrogenadas apresentam boa repetibilidade, com desvios médios relativos inferiores a 5%.

TABELA 8 - RESULTADOS DE ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE DIFERENTES FRAÇÕES NITROGENADAS DE QUEIJO PRATO

AMOSTRA	NITROGÊNIO TOTAL			NITROGÊNIO SOLÚVEL EM pH 4,6			NITROGÊNIO SOLÚVEL EM TCA 12%		
	%	DP	DPR	%	DP	DPR	%	DP	DPR
1	4,27	±0,03	0,70	0,66	±0,00	0,00	0,31	±0,01	3,23
2	4,15	±0,08	1,93	0,40	±0,01	2,50	0,25	±0,01	4,00
3	3,36	±0,04	1,19	0,29	±0,01	3,45	0,24	±0,01	4,17
4	3,54	±0,02	0,56	0,53	±0,01	1,89	0,29	±0,01	3,45
5	3,69	±0,11	2,98	0,41	±0,00	0,00	0,24	±0,01	4,17
6	3,29	±0,01	0,30	0,24	±0,01	4,17	0,15	±0,00	0,00
7	3,23	±0,02	0,62	0,48	±0,02	4,17	0,34	±0,02	5,88
8	3,70	±0,02	0,54	0,53	±0,01	1,89	0,29	±0,01	3,45
9	3,83	±0,02	0,52	0,89	±0,03	3,37	0,58	±0,05	8,62
10	4,07	±0,11	2,70	0,41	±0,00	0,00	0,23	±0,00	0,00
11	3,83	±0,05	1,31	0,40	±0,00	0,00	0,21	±0,01	4,76
12	3,76	±0,03	0,80	0,40	±0,01	2,50	0,21	±0,01	4,76
13	4,04	±0,16	3,96	0,41	±0,00	0,00	0,25	±0,01	4,00
14	4,15	±0,07	1,69	0,40	±0,01	2,50	0,25	±0,02	8,00
15	3,77	±0,09	2,39	0,54	±0,01	1,85	0,27	±0,01	3,70
16	3,95	±0,06	1,52	0,62	±0,01	1,61	0,36	±0,00	0,00
17	3,84	±0,03	0,78	0,53	±0,01	1,89	0,35	±0,01	2,86
<b>MÉDIA</b>	<b>3,79</b>	<b>±0,06</b>	<b>1,58</b>	<b>0,48</b>	<b>±0,01</b>	<b>2,08</b>	<b>0,28</b>	<b>±0,01</b>	<b>3,57</b>

(DP) desvio padrão e (DPR) desvio padrão relativo ou (CV%) coeficiente de variação médio de repetibilidade de três medições em 17 amostras.



TABELA 9 - VALORES CALCULADOS PARA ÍNDICE DE EXTENSÃO DE PROTEÓLISE (IEP) E ÍNDICE DE PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE (IPP) PARA AS AMOSTRAS DE QUEIJO PRATO

AMOSTRA	IEP			IPP		
	%	DP	DPR	%	DP	DPR
1	15,44	±0,11	0,71	7,26	±0,24	3,31
2	9,73	±0,30	3,08	6,00	±0,26	4,33
3	8,74	±0,26	2,97	7,05	±0,14	1,99
4	14,86	±0,40	2,69	8,06	±0,21	2,61
5	11,03	±0,33	2,99	6,54	±0,26	3,98
6	7,24	±0,41	5,66	4,44	±0,02	0,45
7	14,92	±0,58	3,89	10,59	±0,42	3,97
8	14,20	±0,37	2,61	7,70	±0,20	2,60
9	23,32	±0,58	2,49	15,19	±1,27	8,36
10	10,05	±0,38	3,78	5,55	±0,15	2,70
11	10,42	±0,09	0,86	5,58	±0,39	6,99
12	10,71	±0,19	1,77	5,53	±0,19	3,44
13	10,20	±0,48	4,71	6,27	±0,37	5,90
14	9,58	±0,17	1,77	6,13	±0,46	7,50
15	14,20	±0,19	1,34	7,22	±0,44	6,09
16	15,69	±0,13	0,83	9,16	±0,15	1,64
17	13,67	±0,14	1,02	9,00	±0,26	2,89
<b>MÉDIA</b>	<b>12,59</b>	<b>±0,30</b>	<b>2,38</b>	<b>7,49</b>	<b>±0,32</b>	<b>4,04</b>

(DP) desvio padrão e (DPR) desvio padrão relativo ou (CV%) coeficiente de variação médio de repetibilidade de três medições em 17 amostras.

O índice de extensão da proteólise mede o desdobramento do nitrogênio total em nitrogênio solúvel, devido à degradação da caseína pela quimosina, plasmina e proteinases de bactérias lácticas, sendo um fator importante na composição final e nas características sensoriais do produto. Esse índice pode ter um incremento próximo de 100% ao longo de cinco semanas de maturação (MORENO *et al.*, 2001).

O monitoramento do IEP tem grande aplicação tecnológica, porque permite conhecer melhor o índice de aproveitamento dos elementos do leite na coalhada, a atividade proteolítica do coalho, do fermento e das enzimas, bem como o momento ideal de lançamento do produto no mercado (MORETTI; NABUCO; PENNA, 2001).

Nesta avaliação, foram observados índices de extensão de proteólise com grande amplitude, de 7,24 a 23,%. Grande variabilidade também ocorreu em queijo prato de diferentes origens, conforme apresentado por Moreno *et al.* (2001), que

descrevem valores de 7,27 a 13,35% com três semanas de maturação, 8,27 a 15,62% com quatro semanas de maturação e 9,06 a 17,47% com cinco semanas de maturação.

O índice de profundidade da proteólise mede a formação de peptídeos de baixo peso molecular e aminoácidos que se acumulam durante o período de maturação, devido principalmente à ação proteolítica de proteinases e peptidases bacterianas sobre os compostos nitrogenados provenientes da degradação das caseínas. Esse índice apresentou um incremento de 31 a 207% ao longo de cinco semanas de maturação em queijo prato de diferentes origens, de acordo com o reportado por Moreno *et al.* (2001).

Os resultados de índice de profundidade da proteólise observados neste trabalho foram de 4,44 a 15,19%. Grande variabilidade foi apresentada por Moreno *et al.* (2001) que descrevem valores de 3,97- 8,90% com três semanas de maturação; 6,02-15,63% com quatro semanas de maturação e 5,33-14,47% com cinco semanas de maturação, para queijo prato de diferentes origens.

As amostras de queijo prato analisadas apresentaram valores de IEP e IPP similares aos reportados na literatura especializada, entretanto não são conclusivos na estimativa do tempo real de maturação em que se encontram. Considerando que a taxa de proteólise durante a maturação do queijo, assim como a quantidade e a natureza dos produtos de degradação, variam de acordo com a enzima envolvida, a composição e as condições ambientais de estocagem (COSTA JUNIOR e PINHEIRO, 1998).

As variações na proteólise de queijo prato de diferentes origens no estudo de Moreno *et al.* (2001) foram atribuídas às características autolíticas e enzimáticas da microbiota presente nos queijos durante a maturação, incluindo as bactérias NSLAB (bactérias não adicionadas com o fermento lático).

### 5.2.7 Determinação multivariada individual (PLS1) dos Índices de proteólise

#### 5.2.7.1 Determinação multivariada individual (PLS1) do Índice de extensão e profundidade da proteólise por espectroscopia no infravermelho médio

Os modelos multivariados orientados a determinação do índice de extensão e profundidade da proteólise em amostras de queijo prato foram desenvolvidos utilizando-se a região espectral que se estende de 1520 a 3760  $\text{cm}^{-1}$ . Como nas modelagens anteriores, diversos sistemas de pré-processamento foram utilizados, assim como diferentes números de variáveis latentes.

Os resultados apresentados a seguir correspondem aos modelos de melhor desempenho, conseguidos com espectros derivados e alisados e com 6 VL para IEP e 5 para IPP.

Nas Figuras 66 A e B se apresenta a evolução do RMSEC, RMSECV e RMSEP em função do número de variáveis latentes, assim como a variância explicada para cada variável latente. Embora nos dois casos o menor erro seja obtido com 12 VL, observa-se que a partir da sexta variável a variância explicada para X e Y é bastante reduzida. Por este motivo, e para evitar a criação de modelos superajustados, modelos com um menor número de variáveis latentes foram elaborados (6 VL para IEP e 5 VL para IPP), com bons resultados na validação cruzada.

Os “loadings” obtidos reproduzem os dados espectrais conforme o pré-processamento de derivação, visualizados nas Figuras 67 A (IEP) e 67B (IPP).

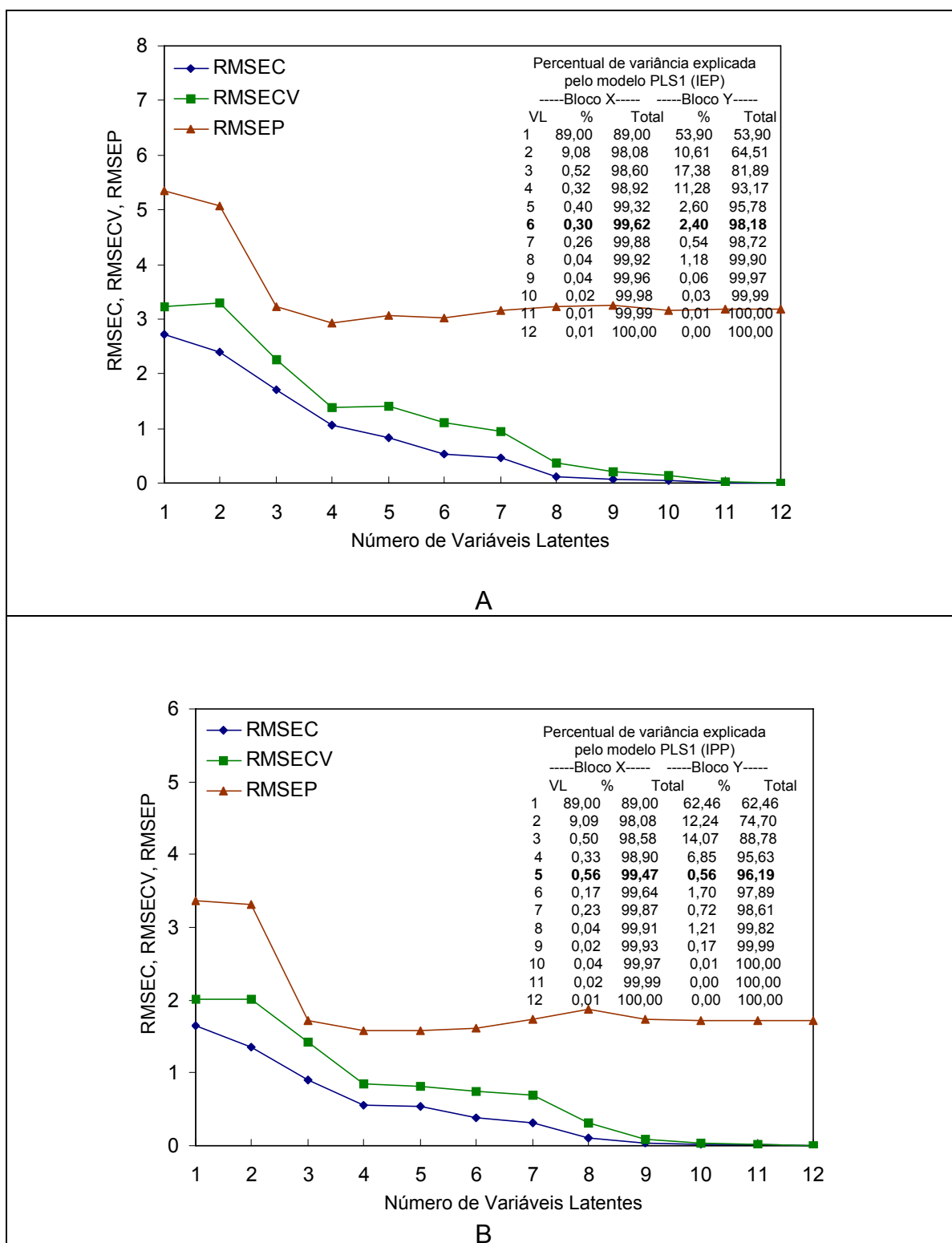


FIGURA 66 - VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES E PERCENTUAL DE VARIÂNCIA WXPLICADA PARA O MODELO PLS1 PARA IEP (A) E IPP(B) NA REGIÃO DO INFRATERMELHO MÉDIO (1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ )

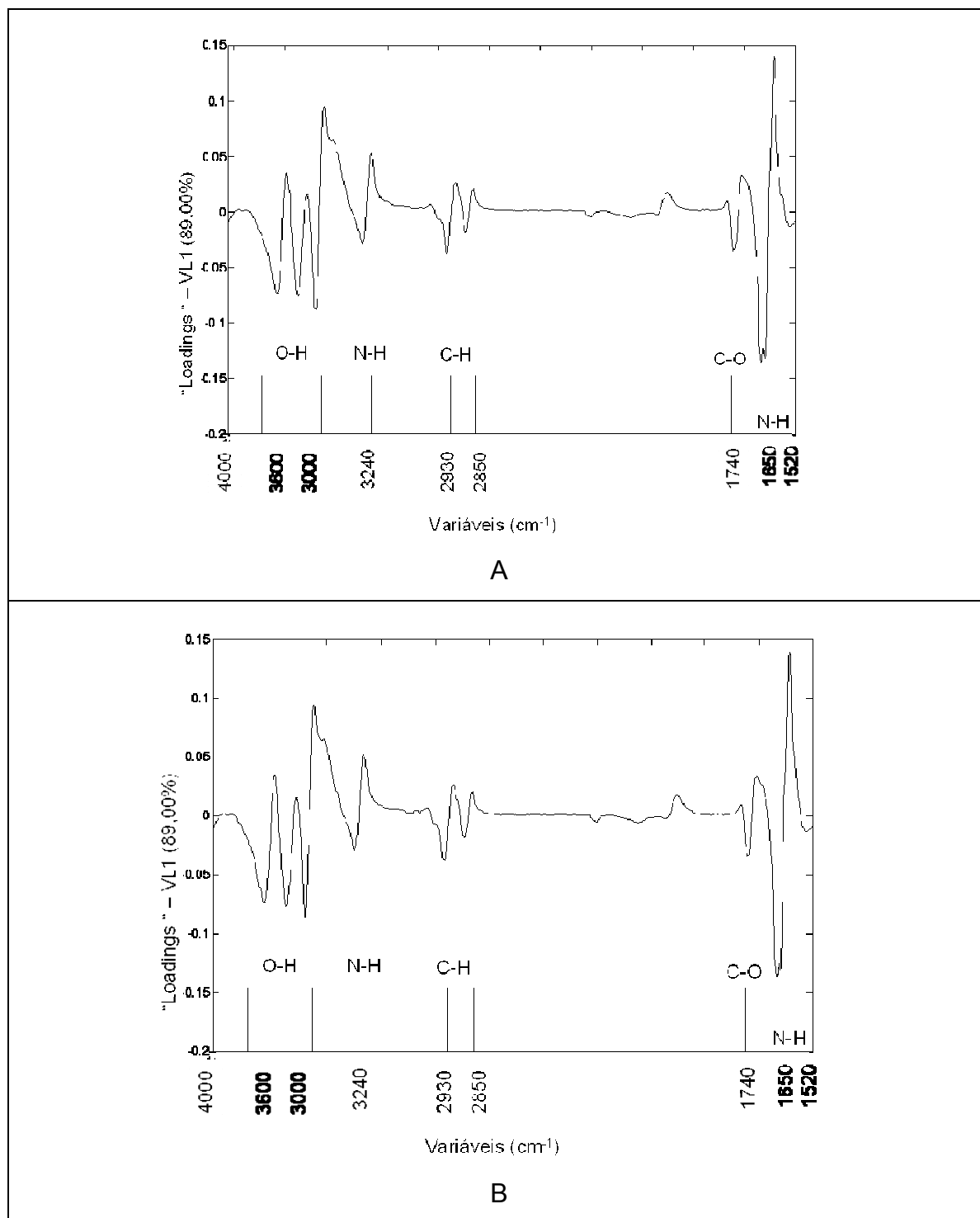


FIGURA 67 - “LOADINGS” PARA O MODELO PLS DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ )

Os coeficientes de regressão obtidos com 6 VL (para IEP) e 5 VL (para IPP) são apresentados na Figura 68A e 68B, e indicam que praticamente toda a região

monitorada se correlaciona adequadamente com a concentração do parâmetro monitorado. As regiões de maior correlação, entretanto, localizam-se entre as variáveis 1650 a 1520  $\text{cm}^{-1}$  e próximo de 3000  $\text{cm}^{-1}$ , regiões de sinais específicos associados à proteína, conforme apresentado por Chen , Irudayaraj e McMahon (1998).

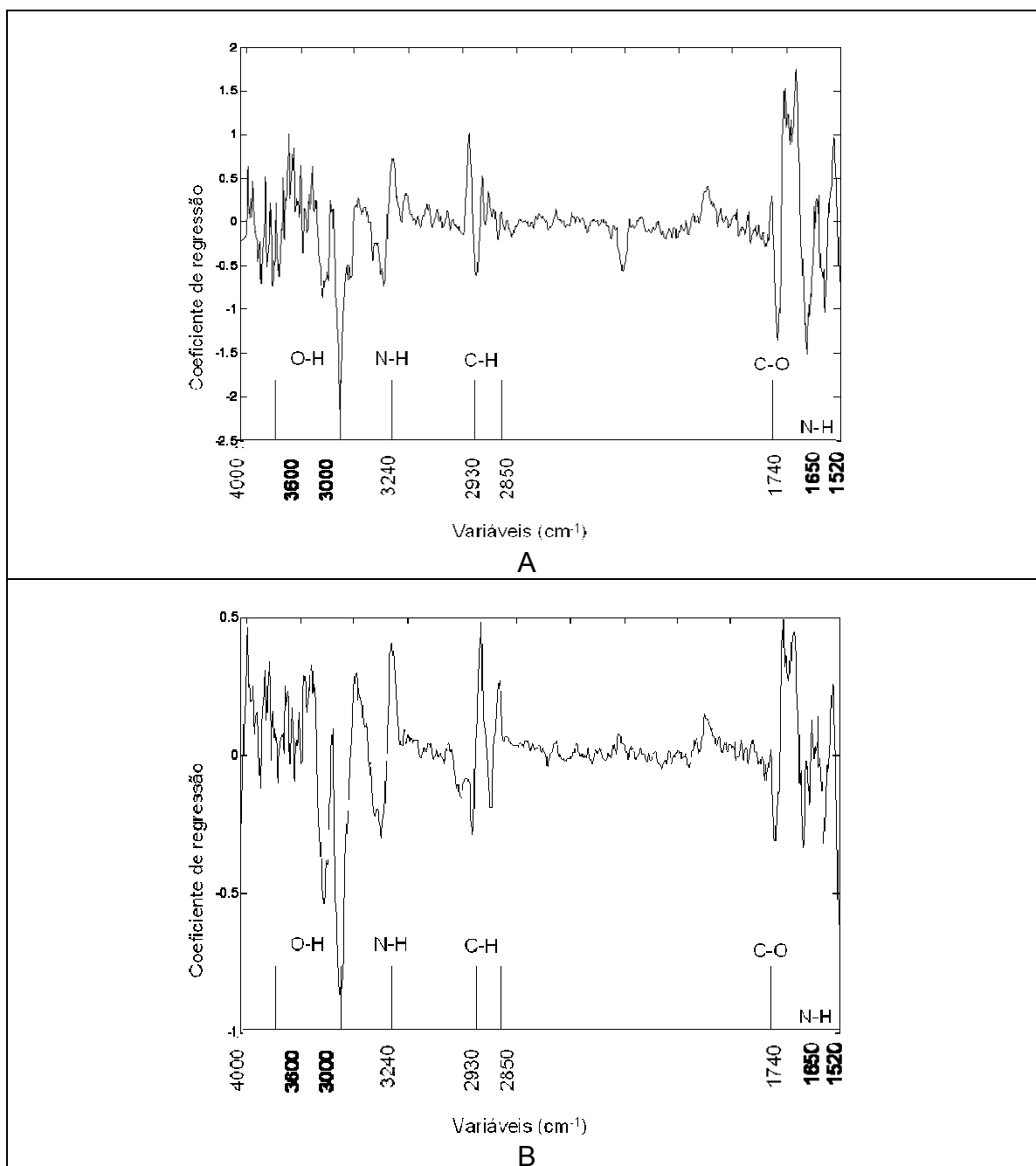


FIGURA 68 - VALORES DO COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ )

Utilizando-se os resíduos de “students” e o “leverage” como critérios para identificação de anomalias (Figura 69A e 69B), é possível observar que os conjuntos de calibração são homogêneos, inexistindo amostras anômalas. A amostra 9 apresenta elevado grau de influência em ambos os modelos, em função dos maiores valores para os índices de proteólise. Entretanto, sempre se apresenta dentro dos limites aceitáveis.

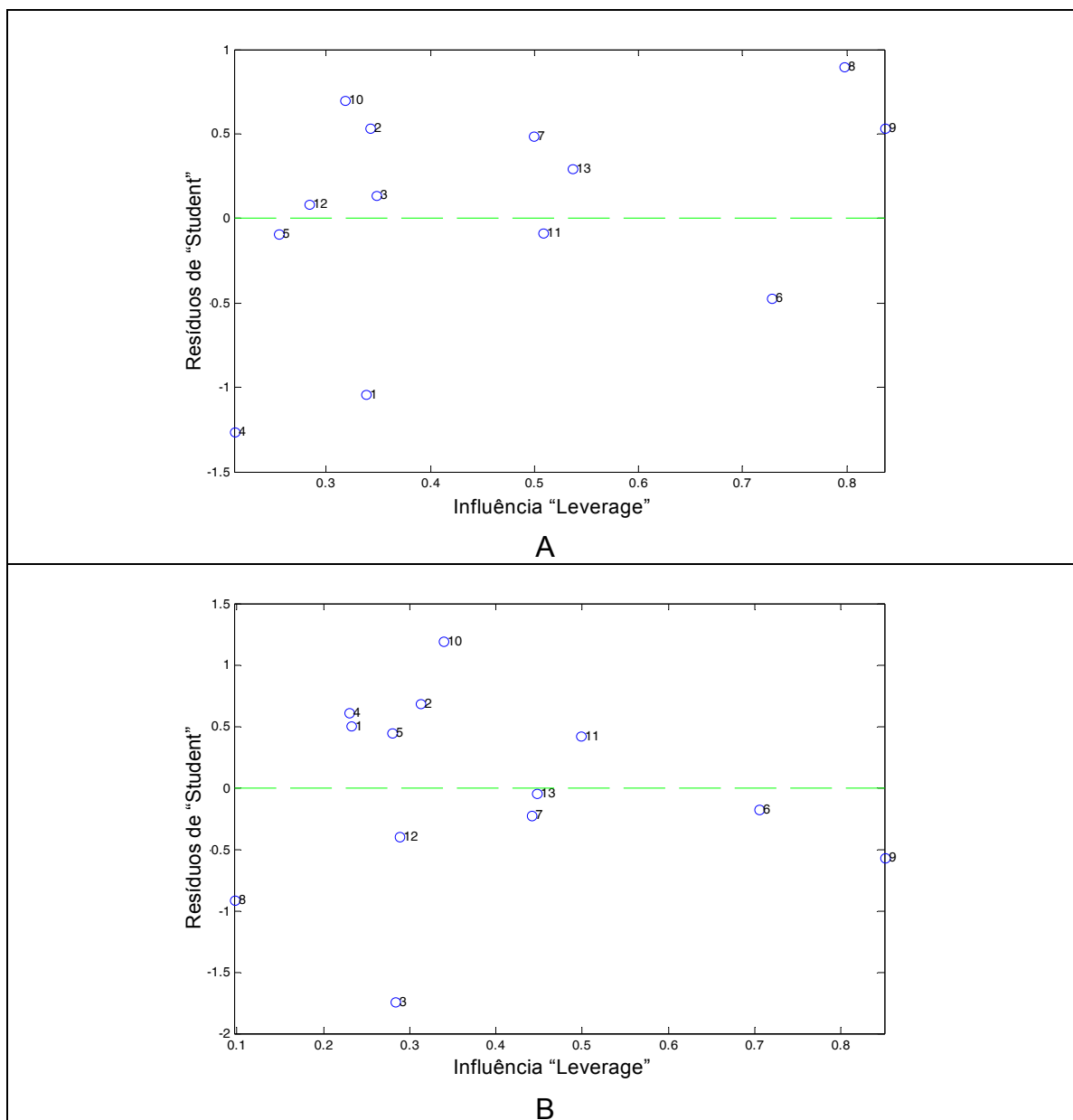


FIGURA 69 - VALORES DE “LEVERAGE” *VERSUS* VALORES DE RESÍDUOS DE “STUDENTS” PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ )

O modelo conseguiu reproduzir a concentração dos padrões de calibração com boa aproximação, representado por um baixo erro padrão de calibração (RMSEC: 0,54 e 0,53), baixo erro de validação cruzada (RMSECV: 1,10 e 0,81) e excelentes coeficientes de correlação entre valores reais e previstos (Rcal: 0,99 e 0,98), para IEP e IPP respectivamente (Figura 70 A e B).

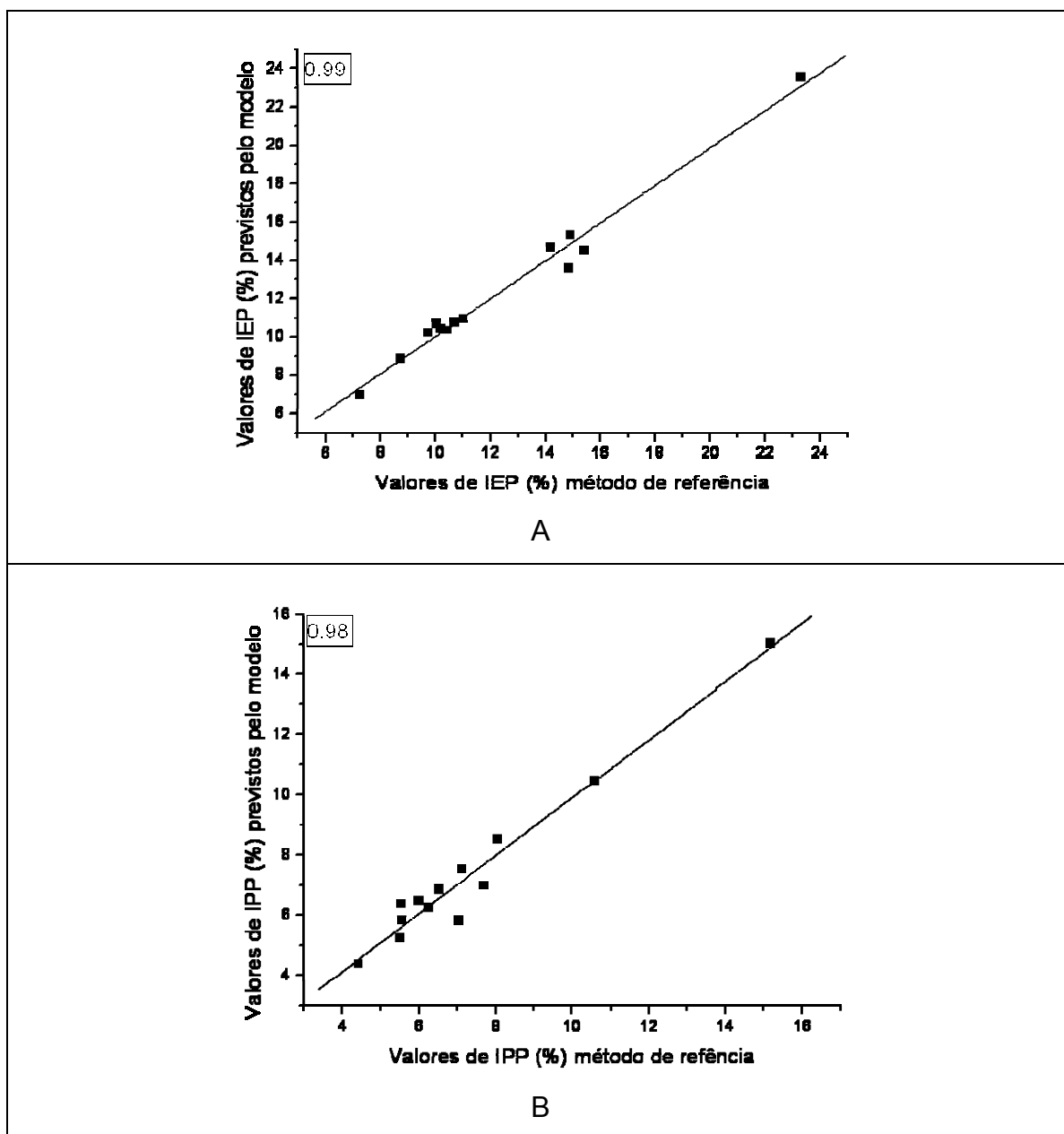


FIGURA 70 - VALORES DE REFERÊNCIA *VERSUS* VALORES PREVISTOS PELO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS1 DE IEP COM SEIS VL (A) E DE IPP COM CINCO VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (1520 A 3760  $\text{cm}^{-1}$ )



A real capacidade de previsão dos modelos foi avaliada pela análise de quatro amostras que não fizeram parte do conjunto de calibração, obtendo-se os resultados apresentados na Tabela 10. Nesta fase de validação foram obtidos erros relativos médios entre 20 e 15%, demonstrando baixa capacidade preditiva do modelo para as duas propriedades avaliadas.

TABELA 10 - RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS1 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO (MID)

PARÂMETROS DO MODELO				
IEP			IPP	
Região espectral	1520 a 3760 cm <sup>-1</sup>			
Matriz	m17			
Pré-processamento	S21			
VL	6			5
Variância explicada (%X)	99,62			99,47
Variância explicada (%Y)	98,18			96,19
Leverage máximo	1,38			1,15
Anomalias	0			0
CALIBRAÇÃO				
IEP			IPP	
RMSEC	0,54			0,53
RMSECV	1,10			0,81
Rcal	0,99			0,98
VALIDAÇÃO EXTERNA				
IEP			IPP	
AMOSTRA	REAL	PREV	REAL	PREV
14	9,58	11,72	6,13	6,64
15	14,20	10,37	7,22	5,95
16	15,69	11,58	9,16	6,38
17	13,67	14,11	9,00	8,43
Média	13,29	11,95	7,88	6,85
RMSEP	3,01		1,58	
ER (%) médio	19,68		15,65	

S21: 21 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada.

Os resultados insatisfatórios obtidos durante a fase de validação externa, entretanto, sugerem que a variação dos teores dos parâmetros de proteólise não é adequadamente representada pela informação espectral. A este respeito, é importante destacar que o índice de extensão da proteólise, por exemplo, se relaciona com a degradação da caseína por bactérias lácticas, processo que resulta em alterações de pequenas concentrações das frações do nitrogênio, neste caso, inferiores a 1% em valores absolutos, fato que provavelmente, não resulta em substanciais modificações no perfil espectroscópico das amostras.

#### 5.2.7.2 Determinação multivariada PLS1 do Índice de extensão e profundidade da proteólise por espectroscopia no infravermelho próximo

Visando a determinação do índice de extensão e profundidade da proteólise em queijo prato, diversos modelos foram desenvolvidos, utilizando-se a região espectral compreendida entre 6800 e 4000  $\text{cm}^{-1}$  e 7500 e 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

Os modelos de calibração que permitiram a obtenção dos menores erros de previsão foram desenvolvidos com sinais espectrais pré-processados por derivação e alisamento, utilizando-se 4 VL para IEP e 3 para IPP. Esses resultados podem ser acompanhados nas variâncias explicadas, e na evolução dos erros de calibração nas Figuras 71 A e 71B.

Os gráficos de “loadings”, apresentados nas Figuras 72 A (IEP) e 72B (IPP), reproduzem os dados espectrais, conforme o pré-processamento de derivação.

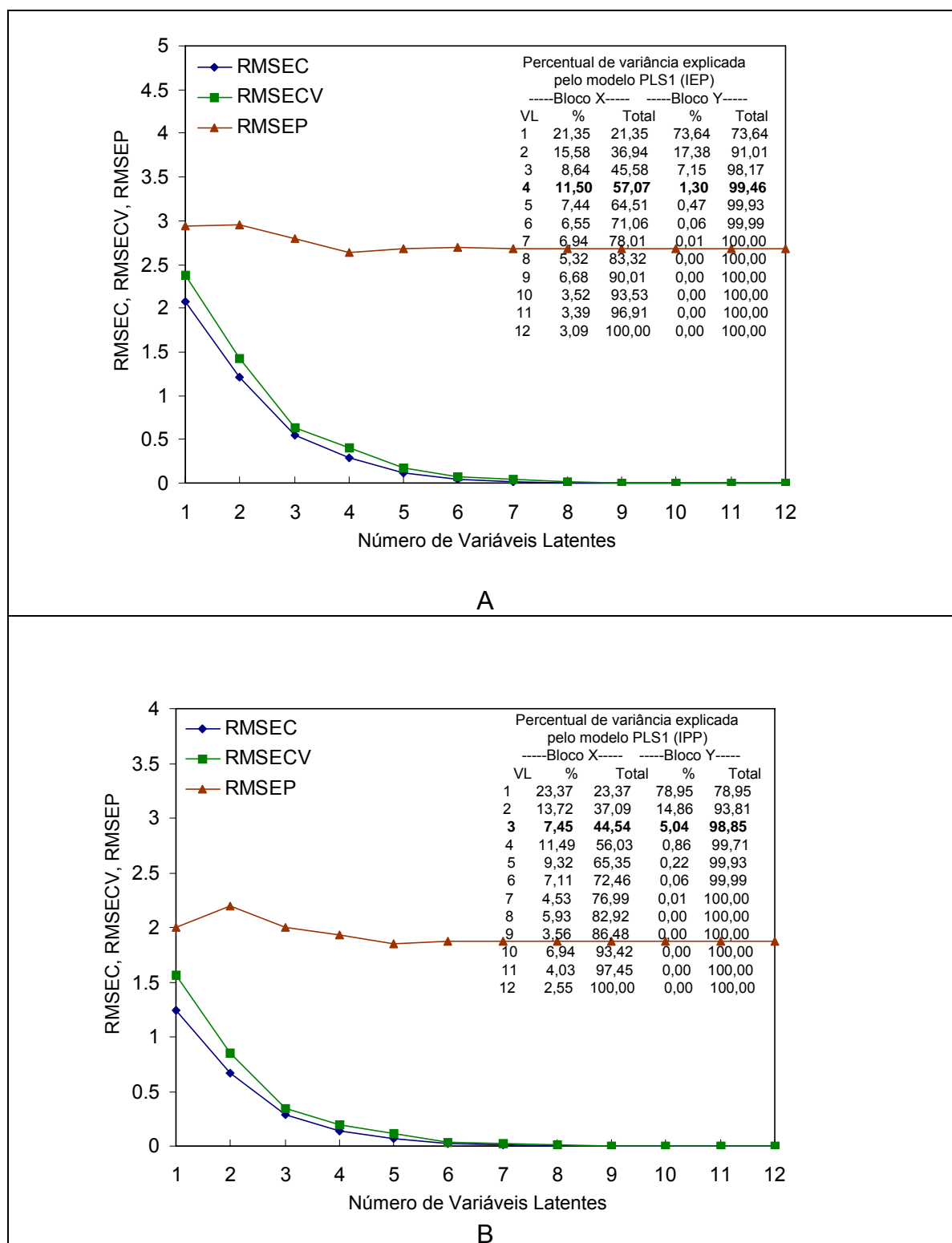


FIGURA 71 - VALORES DE RMSEC EM FUNÇÃO DO NÚMERO DE VARIÁVEIS LATENTES E PERCENTUAL DE VARIÂNCIA EXPLICADA PARA O MODELO PLS1 DE IEP (A) E IPP (B) NO INFRATERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$

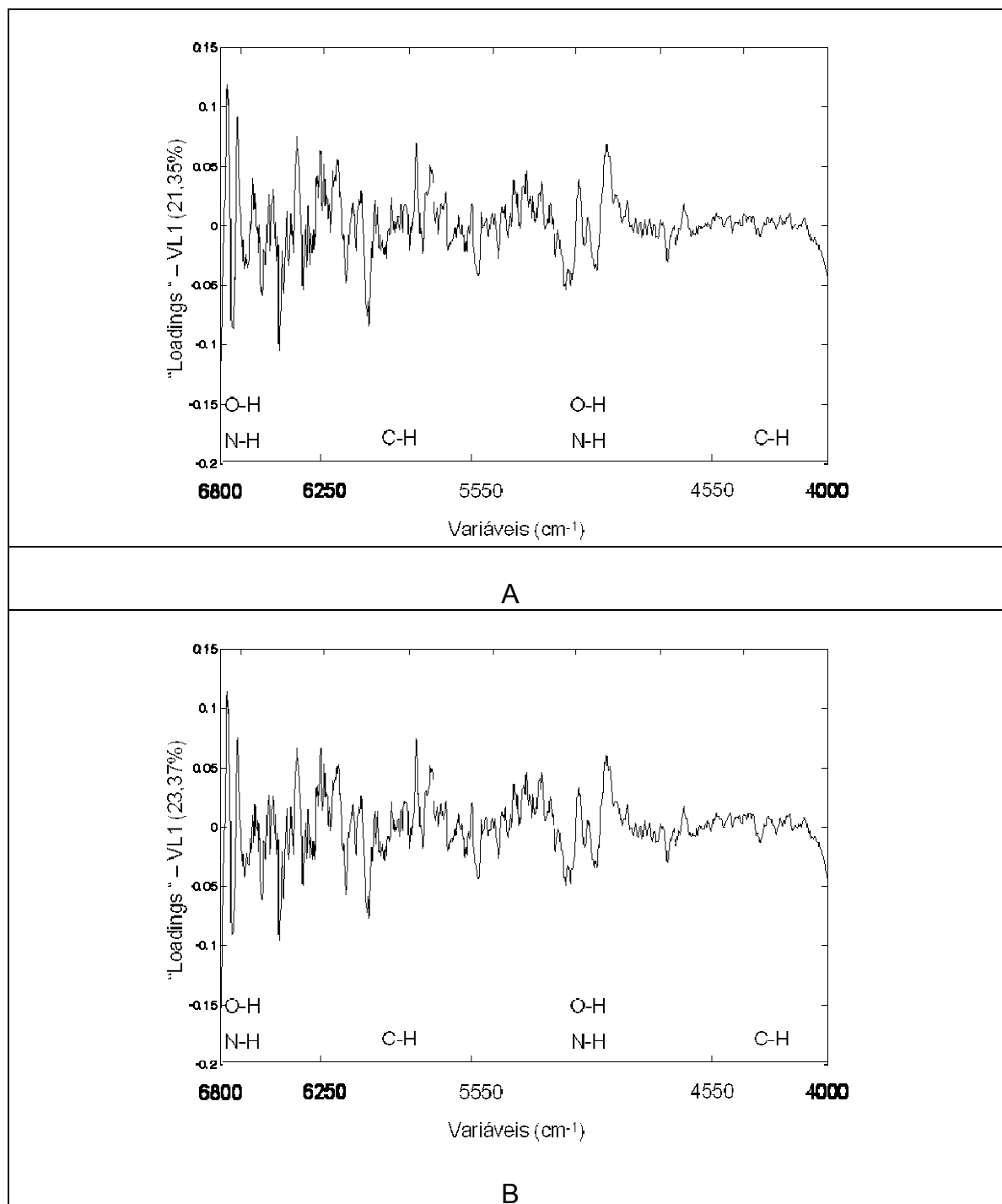


FIGURA 72 - “LOADINGS” PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E DE IPP COM TRÊS VL (B), NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$

Os coeficientes de regressão do modelo são apresentados na Figura 73A e 73B e indicam que a região espectral que melhor se correlaciona com a

concentração dos parâmetros monitorados se localiza entre as variáveis 1500 e 1000 ( $6800\text{-}5550\text{ cm}^{-1}$ ), região esta em que se concentram os sinais específicos associados ao primeiro sobretom de N-H, O-H e C-H, conforme apresentado por Pasquini (2003 e 2006).

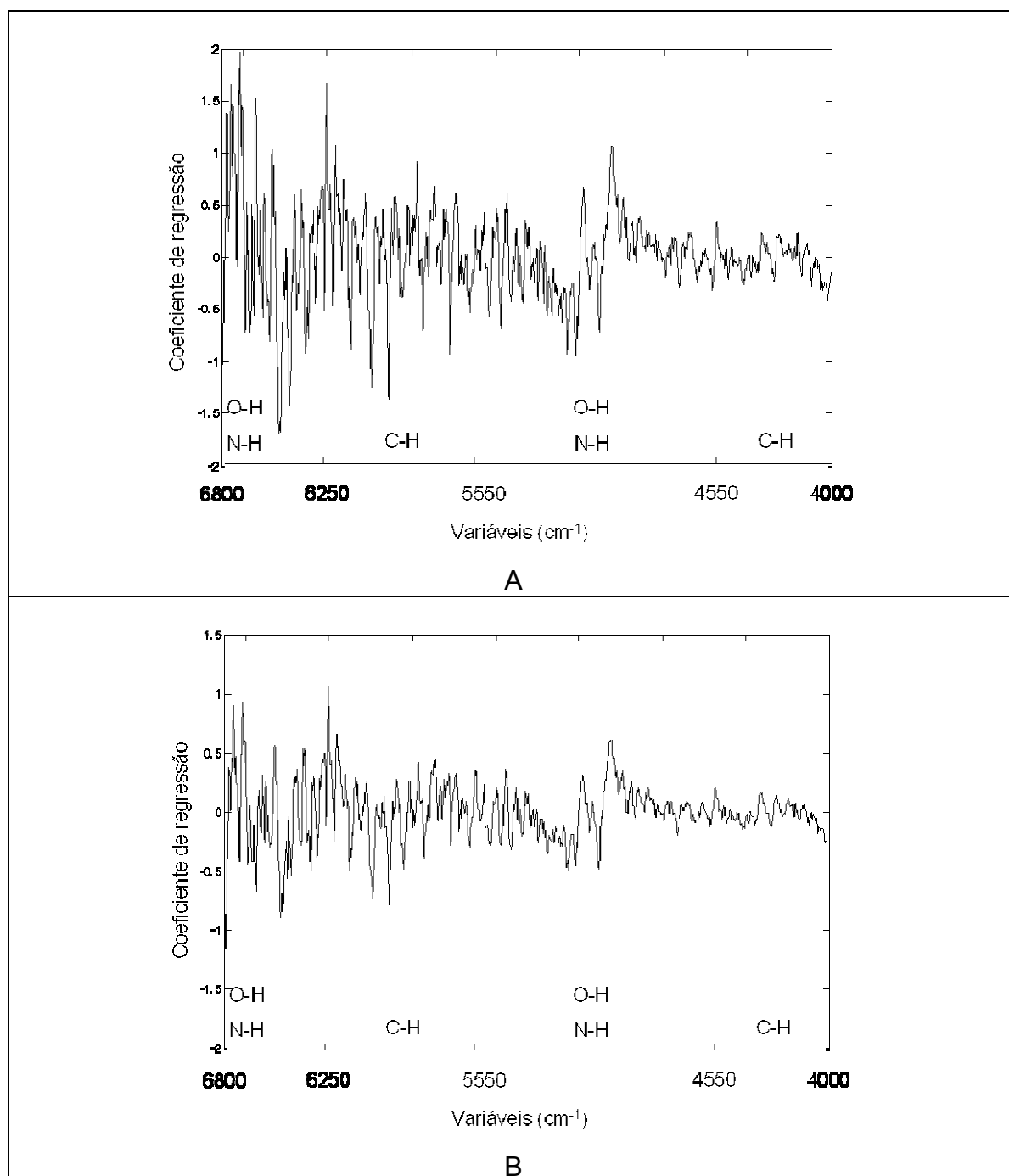


FIGURA 73 - VALORES DO COEFICIENTE DE REGRESSÃO PARA O MODELO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E DE IPP COM TRÊS VL (B), NO INFRAVERMELHO MÉDIO DE  $6800\text{ A }4000\text{ cm}^{-1}$

Na avaliação da influência e dos resíduos de “students” (Figura 74A e 74B), é possível verificar homogeneidade no conjunto de calibração para os dois modelos, não sendo verificadas anomalias.

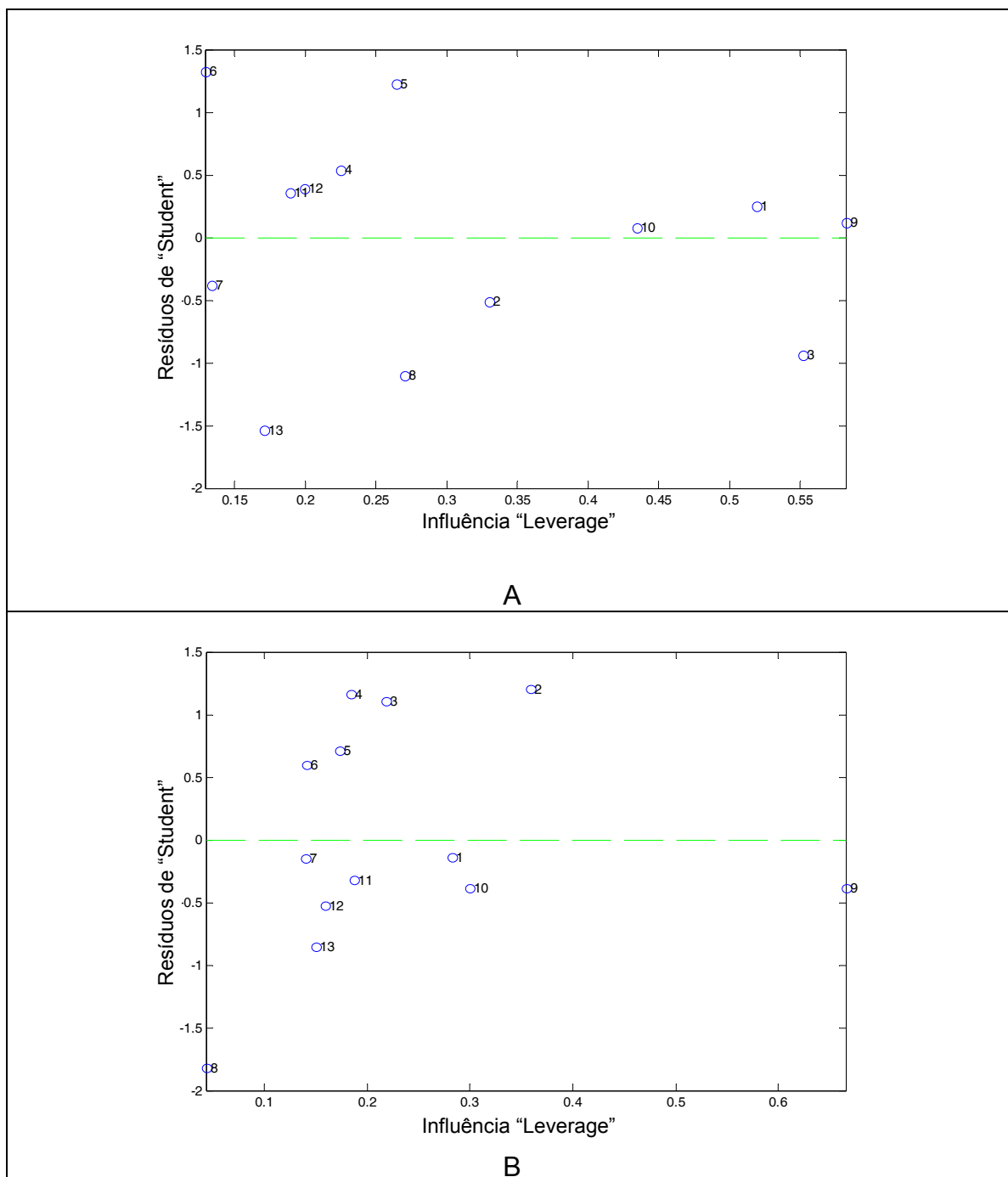


FIGURA 74 - VALORES DE “LEVERAGE” VERSUS VALORES DE RESÍDUOS DE STUDENT PARA MODELO PLS1 PARA IEP COM QUATRO VL (A) E IPP COM TRÊS VL (B) NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$

Os modelos conseguem reproduzir a concentração dos padrões de calibração com boa aproximação, representado por baixos erros padrão de calibração (RMSEC) e de validação cruzada (RMSECV) e excelentes coeficientes de regressão, como apresentado na Figura 75 A e B e Tabela 11.

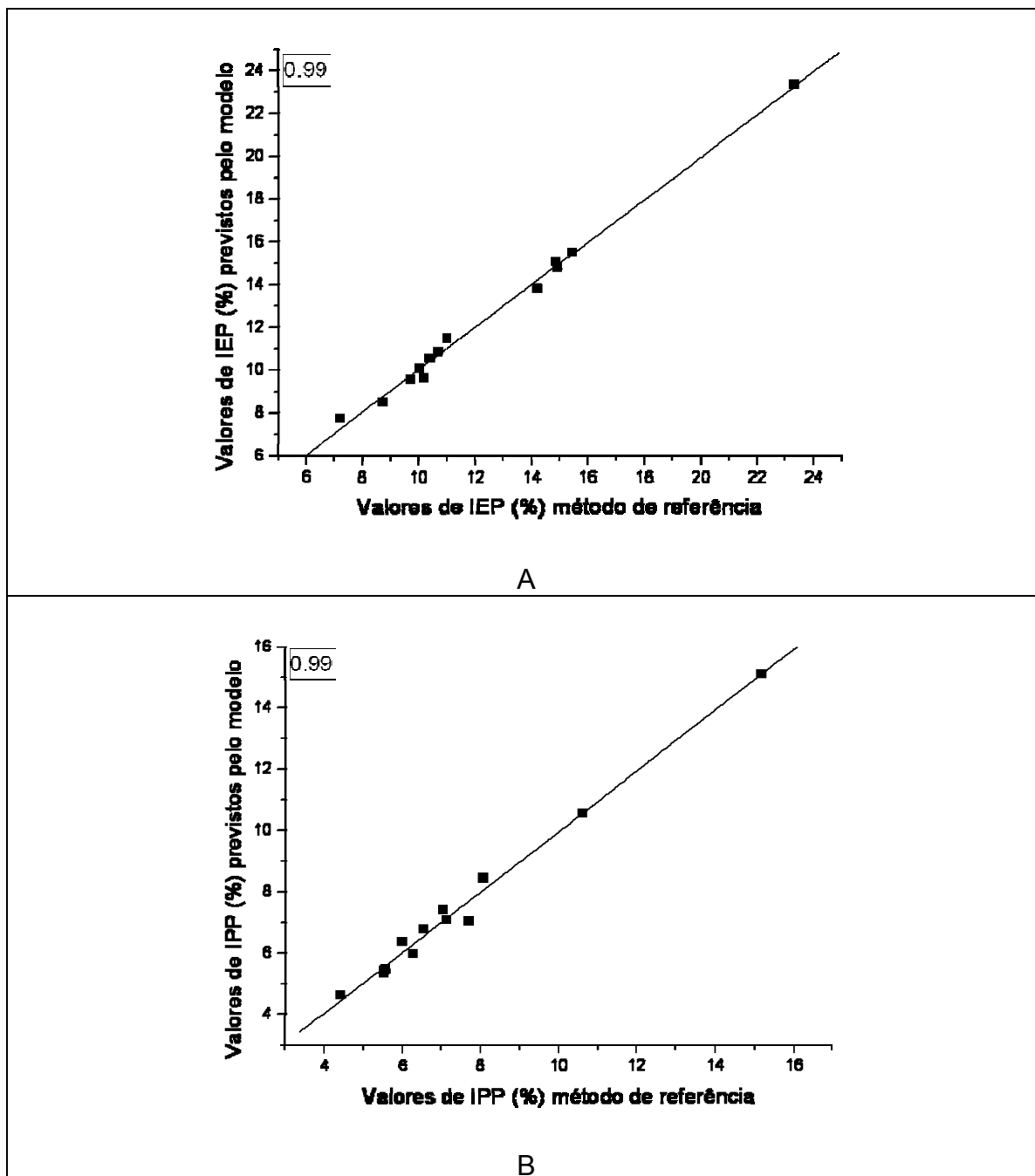


FIGURA 75 - VALORES DE REFERÊNCIA *VERSUS* VALORES PREVISTOS PELO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS1 DE IEP COM QUATRO VL (A) E IPP COM TRÊS VL (B) NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO DE 6800 A 4000  $\text{cm}^{-1}$

A capacidade preditiva do modelo foi avaliada pela análise de amostras que não fizeram parte do processo de desenvolvimento dos modelos, encontrando-se os resultados apresentados na Tabela 11. Novamente, erros médios da ordem de 20% foram observados, o que atesta a baixa capacidade preditiva do modelo para as duas propriedades de interesse.

**TABELA 11 - RESULTADOS DOS MODELOS DE CALIBRAÇÃO PLS1 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIR)**

PARÂMETROS DO MODELO				
Região espectral	4000 a 6800 cm <sup>-1</sup>			
Matriz	m17a			
Pré-processamento	S21			
VL	4		3	
Variância explicada (%X)	57,07		44,54	
Variância explicada (%Y)	99,46		98,85	
Leverage máximo	0,92		0,69	
Anomalias	0		0	
CALIBRAÇÃO				
	IEP		IPP	
RMSEC	0,29		0,29	
RMSECV	0,40		0,35	
Rcal	0,99		0,99	
VALIDAÇÃO EXTERNA				
	IEP		IPP	
	REAL	PREV	REAL	PREV
17	9,58	10,65	6,13	5,84
18	14,21	11,97	7,22	6,21
19	15,69	11,03	9,16	6,87
55	13,67	11,61	9,00	5,90
Média	13,29	11,32	7,88	6,21
RMSEP	2,64		2,00	
ER (%) médio	18,89		19,58	

S21: 21 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada.



### 5.2.8 Determinação multivariada simultânea (PLS2) dos índices de proteólise

Seguindo a mesma rotina de desenvolvimento apresentada anteriormente, modelos para determinação simultânea dos dois parâmetros foram desenvolvidos, utilizando-se separadamente as regiões espectrais do infravermelho médio e próximo.

Os resultados, resumidamente apresentados nas Tabelas 12 e 13, revelam erros de previsão similares aos apresentados pelos modelos individuais, demonstrando definitivamente a incompatibilidade entre as informações espectrais e as concentrações dos parâmetros de interesse.

TABELA 12 - RESULTADO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO MÉDIO

PARÂMETROS DO MODELO				
Região espectral	1520 a 3760 cm <sup>-1</sup>			
Matriz	Mqp17			
Pré-processamento	S21			
VL	6			
Variância explicada (%X)	99,62			
Variância explicada (%Y)	97,23			
Leverage máximo	1,38			
Anomalias	0			
CALIBRAÇÃO				
	IEP		IPP	
RMSEC	0,56		0,58	
RMSECV	1,10		1,12	
Rcal	0,99		0,98	
VALIDAÇÃO EXTERNA				
	IEP		IPP	
	REAL	PREV	REAL	PREV
17	9,58	11,76	6,13	6,82
18	14,21	10,34	7,22	5,97
19	15,69	11,55	9,16	6,50
55	13,67	14,26	9,00	8,18
Média	13,29	11,98	7,88	6,87
RMSEP	3,05		1,57	
ER (%) médio	20,15		16,70	

S21: 21 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada.

De forma geral, os resultados dos modelos multivariados individuais e simultâneos para determinação dos índices de proteólise apresentaram um excelente desempenho na fase de calibração, destacando a elevada correlação verificada entre os parâmetros de proteólise e as regiões espectrais associadas à proteína.

TABELA 13 - RESULTADO DO MODELO DE CALIBRAÇÃO PLS2 PARA DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE EXTENSÃO E PROFUNDIDADE DA PROTEÓLISE NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO PRÓXIMO

PARÂMETROS DO MODELO				
Região espectral	4000 a 6800 cm <sup>-1</sup>			
Matriz	Mqp17a			
Pré-processamento	S21			
VL	4			
Variância explicada (%X)	57,44			
Variância explicada (%Y)	98,07			
Leverage máximo	0,92			
Anomalias	0			
CALIBRAÇÃO				
	IEP		IPP	
RMSEC	0,36		0,57	
RMSECV	0,46		0,79	
Rcal	0,99		0,98	
VALIDAÇÃO EXTERNA				
	IEP		IPP	
	REAL	PREV	REAL	PREV
17	9,58	10,38	6,13	5,87
18	14,21	11,92	7,22	6,25
19	15,69	11,37	9,16	6,99
55	13,67	11,60	9,00	6,11
Média	13,29	11,32	7,88	6,30
RMSEP	2,68		1,87	
ER (%) médio	16,78		18,35	

S21: 21 pontos de alisamento, ajuste polinomial de ordem 2 e primeira derivada.

A informação espectral das amostras de queijo prato pode ter sido influenciada pela ocorrência de reflexão especular. Este fato é relevante, conforme apresentado por Reeves (2003), uma vez que a variação do grau de distorção

ocasionado por reflexão especular pode dificultar o desenvolvimento de modelos de calibrações para constituintes com baixas concentrações (menor ou igual a 1%), podendo ocorrer maximização ou redução do sinal na região de interesse na análise.

Os resultados apresentados foram similares aos obtidos por Wittrup e Norgaard (1998), ao utilizar a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) para determinar o grau de maturação de queijos semiduros, e que não apresentou o resultado esperado, porque não houve alteração significativa nos padrões espectrais observados nessa região, ainda que tenham utilizado um universo amostral quatro vezes maior que a presente pesquisa.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstram a capacidade das ferramentas de calibração multivariada para desenvolvimento de metodologias espectroscópicas (DRIFT) orientadas à discriminação de diversos tipos de queijos. De maneira geral, a análise de componentes principais (PCA) permitiu a discriminação de queijos quanto ao teor de água, permitindo agrupamentos de alta, média e baixa umidade.

Algumas inconsistências puderam ser observadas nesta classificação, principalmente relacionadas com a separação de amostras de idêntico tipo. Neste caso, diferenças processuais na fabricação das amostras podem ser responsabilizadas por referida diferenciação.

Modelos multivariados fundamentados em regressão de mínimos quadrados parciais (PLS) e informações espectrais do infravermelho médio e próximo permitiram a determinação individual e simultânea dos principais parâmetros físico-químicos do queijo (gordura, proteína, umidade e extrato seco), com excelente aproximação aos valores fornecidos pelas metodologias oficiais por via úmida. Esta característica, junto com a simplicidade operacional representada pela inexistência de operações de preparo de amostra, envolve inúmeras vantagens de ordem prática, dentre as que se destacam: aumentos da rapidez de análise, diminuição de custos e inexistência de resíduos químicos potencialmente poluentes.

Modelos individuais e simultâneos foram considerados insatisfatórios para a avaliação dos parâmetros de proteólise das amostras de queijo. De maneira geral, erros de previsão da ordem de 15 a 20% foram observados na aplicação de todos os modelos desenvolvidos. Provavelmente, referida inaptidão esteja relacionada com incapacidade da técnica espectroscópica para evidenciar as pequenas mudanças observadas durante a proteólise.

## **7 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

A realização deste trabalho permitiu evidenciar alguns aspectos relevantes da calibração multivariada que permitiram reconhecer temas potenciais para trabalhos futuros:

- i. Estudos de desenvolvimento de metodologias espectroscópicas DRIFT associados a calibração multivariada com potencial implantação em rotinas de controle de qualidade de produtos alimentícios.
- ii. Desenvolvimento de metodologias utilizando amostras de produtos de um único fabricante com o objetivo de atender a especificidade de cada unidade produtiva.
- iii. Desenvolvimento de metodologias utilizando amostras de produtos de diferentes fabricantes com o objetivo de atender a necessidade de órgãos de pesquisa e ou fiscalização.

## REFERÊNCIAS

- ABIA. **Associação Brasileira da Indústria Alimentícia**. Novembro 2003. Indústria Brasileira de Alimentos Fatura 140 BI em 2003.
- ABIQ. **Associação Brasileira das Indústrias de Queijos**. Valor nutricional do queijo e sua importância para uma dieta saudável. Página Rural. 2005.
- ADANI, A.; GENEVINI, P.; RICCA, G.; TAMBONE, F.; MONTONERI, E. Modification of soil humic matter after 4 years of compost application. **Waste Management**, v. 27, p. 319–324, 2007.
- ADAMOPOULOS, K. G.; GOULA, A. M.; PETROPAKIS, H. J.; Quality Control During Processing of Feta Cheese-NIR Application. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.14, n. 4, p. 431-440, Ago, 2001.
- ADHIKARI, C.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; ABBOTT, U. R.; A rapid FTIR method for screening methyl sulfide and hexanal in modified atmosphere meal, ready-to-eat entrees. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 36, n. 1, p. 21-27, Fev., 2003.
- AMIR, S.; HAFIDI, M.; MERLINA, G.; HAMDY, H.; REVEL, J.C. Elemental analysis, FTIR and <sup>13</sup>C NMR of humic acids from sewage sludge composting. **Agronomie**, v. 24, p. 13-18, 2004.
- AOAC. **Association of Official Analytical Chemists**. Official methods of analysis of AOAC international. AOAC Washington.1995.
- APARÍCIO, S. M. **Metodologías Analíticas Basadas en Espectroscopia de infrarrojo y Calibración Multivariante. Aplicación a la Industria Petroquímica**. Tese de doutorado. Universitat Rovira i Virgili. Terragona. Espanha. 2002.
- ARA, A.; ALI, M. L.; ISLAM, M. S.; ISLAM, M. N.; Manufacture of Cheese from Skim Milk with Addition of Different Levels of Vegetable Oil. OnLine **Journal of Biological Sciences**, v. 2, n. 11, p. 734-736, 2002. Disponível em: <http://ansinet.org/fulltext/jbs/jbs211734-736.pdf>. Acesso em 14/05/2007.
- ARVANITOYANNIS, S.; KATSOTA, M. N.; PSARRA, E. P.; SOUFLEROS, E. H.; KALLITHRAKA, S.; Application of quality control methods for assessing wine authenticity: Use of multivariate analysis (chemometrics). **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, n. 10, p. 321-336, Out., 1999.
- BALABIN, R. M.; SAFIEVA, R. Z.; LOMAKINA, E. I. Comparison of linear and nonlinear calibration models based on near infrared (NIR) spectroscopy data for gasoline properties prediction. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 88, p. 183–188, 2007.

BALDINI, V. L. S.; **Proteólise em queijo tipo Prato durante a maturação**. 1998. 208p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

BARBANO, D. D.; LYNCH, J. M.; FLEMING, J. R. Direct and indirect determination of true protein content of milk by Kjeldahl analysis: collaborative study. **J. of Ass. of Offic. Anal. Chem.**, p. 74-281, 1991.

BARROS, C. M. V.; CUNHA, C. R.; GALLINA, D. A.; VIOTTO, L. A.; VIOTTO, W. H.. Efeito do uso de cultura adjunta (*Lactobacillus helveticus*) na proteólise, propriedades viscoelásticas e aceitação sensorial do queijo prato *light*.\* **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.1, n.26, p. 11-18, jan.-mar., 2006.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. 25 anos de quimiometria no Brasil. **Quím. Nova**, v.29, n.6, p.1401-1406, nov./dez., 2006.

BASTIEN, P., ESPOSITO-VINZI, V., TENENHAUS, M. PLS generalised regression. **Comput. Stat. Data Anal.**, v. 48, p. 17- 46, 2005.

BATTEN, G. D.; Plant analysis using near-infrared reflectance spectroscopy: the potential and the limitations. **Aust. J. Exp. Agric.**, v. 38, p. 697-706, 1998.

BEEBE, K. R.; KOWALSKI, B. R.; An introduction to multivariate calibration and analysis, **Anal. Chem.**, v.59, p. 1007-1117, 1987.

BEEBE, K.; PELL, R.; SCASHOLTZ, M.-B.; **Chemometrics. A Practical Guide**. Wiley, New York. 1998.

BELLAVER, C.; Segurança Alimentar e Controle de Qualidade no Uso de Ingredientes na Alimentação de Suínos. **II Conferência Internacional Virtual sobre Qualidade de Carne Suína**. 05 de novembro a 06 de dezembro de 2001 — Via Internet.

BELTON, P. S.; SAFFA A. M.; WILSON, R. H.; The potential of Fourier transform infrared spectroscopy for the analysis of confectionery products. **Food Chem.**, v. 28, p. 53-61, 1988.

BONASSI, I. A.; Ácidos graxos livres voláteis em alguns queijos fabricados no Brasil. **ANAIIS DO CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS**, 4, Instituto de Laticínios Cândido Tostes. Juiz de Fora, p. 102-110, 1978.

BRASIL. **Ministério da agricultura e do Abastecimento e da Reforma Agrária**. Regulamento Técnico para fixação da identidade de queijos. Portaria nº. 146, de 07 de março de 1996.

BRASIL(a). **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Regulamento Técnico para fixação da identidade e qualidade do Queijo Parmesão, Parmesano, Sbrinz, Reggiano, e Reggianito. Portaria nº. 353, de 04 de setembro de 1997.

BRASIL(b). **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Regulamento Técnico para fixação da identidade e qualidade do Queijo Processado ou fundido, Processado pasteurizado e Processado ou fundido U.H.T (UAT). Portaria nº. 356, de 04 de setembro de 1997.

BRASIL(c). **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Regulamento Técnico para fixação da identidade e qualidade do Queijo Prato. Portaria nº. 358, de 04 de setembro de 1997.

BRASIL(d). **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Regulamento Técnico para fixação da identidade e qualidade do Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). Portaria nº. 364, de 04 de setembro de 1997.

BRASIL. **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Métodos analíticos físico-químicos para o controle de leite e produtos lácteos. Secretaria de Defesa Agropecuária Instrução Normativa nº. 22, de 14 abril de 2003.

BRASIL. **Ministério da agricultura e do Abastecimento**. Métodos analíticos físico-químicos para o controle de leite e produtos lácteos. Secretaria de Defesa Agropecuária Instrução Normativa nº. 68, de 12 dezembro de 2006.

BROAD, N. W.; JEE, R. D.; MOFFAT, A. C.; and SMITH, M. R. Application of transmission near-infrared spectroscopy to uniformity of content testing of intact steroid tablets. **Analyst.**, p.2207-2211, 2001.

BROMMAGE, R.; JUILLERAT, M. A.; JOST, R.; Influence of casein phosphopeptides and lactulose on intestinal calcium absorption in adult female rats. **Le Lait - Dairy Science and Technology.**, v. 71, p.173–180, 1991.

BROWN, P.; **Measurement, Regression and Calibration**. Clarendon Press, Oxford, 1993.

BÜNING-PFAUE, H.; Analysis of water in food by near infrared spectroscopy. **Food Chemistry.**, v. 82, p.107-115, 2003.

CARLSON, R.; **Design and Optimizaton in Organic Synthesis**, Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1992.

CEN, H.; BAO, Y.; HE, Y.; SUN; D-W. Visible and near infrared spectroscopy for rapid detection of citric and tartaric acids in orange juice. **Journal of Food Engineering.**, v. 82, p. 253–260, 2007.

CHE MAN, Y. B.; MOH, M. H.; Determination of free fatty acids in palm oil by near-infrared reflectance spectroscopy. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 75, p. 557–564, 1998.

CHE MAN, Y. B.; SETIOWATY, G.; Application of Fourier transforms infrared spectroscopy to determine free fatty acid contents in palm olein. **Food Chemistry.**, v. 66, n. 1, p. 109-114, Jul., 1999.



CHEN, M.; IRUDAYARAJ, J.; McMAHON, D.J.; Examination of full fat and reduced fat Cheddar cheese during ripening by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **J. Dairy Sci.**, v. 81, p. 2791-2797, 1998.

CHIANG, L. H.; COLEGROVE, L. F. Industrial implementation of on-line multivariate quality control. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems.**, v. 88, p. 143-153, 2007.

CHICHOSKI, A. J.; VALDUGA, E.; VALDUGA, A. T.; TORNADIJO, M. E.; FRESNO, J. M.; Characterization of Prato cheese, a Brazilian semi-hard cow variety: evolution of physico-chemical parameters and mineral composition during ripening. **Food Control.**, v. 13, p. 329-336, 2002.

COATES, J.; Vibrational Spectroscopy: Instrumentation for infrared and Raman spectroscopy – **Appl. Spectrosc. Rev.**, v.33, p. 267-425, 1998.

COMA, V.; SEBTI, I.; PARDON, P.; PICHAVANT, F. H.; DESCHAMPS, A.; Film properties from crosslinking of cellulosic derivatives with a polyfunctional carboxylic acid. **Carbohydrate Polymers.**, v. 51, n. 3, p. 265-271, Fev, 2003.

CORREIA, P. R. M.; FERREIRA, M. M. C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando procedimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Quím. Nova**, v. 30, n.2, p. 481-487, 2007.

COSTA JUNIOR, L.C.G.; PINHEIRO, A.J.R. Influência da relação caseína gordura nas características físico-químicas do queijo prato. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, Juiz de fora, v.53, n. 305, p. 29-49, set-dez,1998.

COZZOLINO, D.; MORON, A.; Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. **Soil & Tillage Research**, 2005.

DAGNEW, M.; CROWE, T. G.; SCHOENAU, J. J. Sensing of hog manure nutrients with reflectance spectroscopy. SAE/SCGR-NABEC. **Meeting Guelph**, Canada. 2001.

DAUGHTRY, C. S. T.; Discriminating crop residues from soil by shortwave infrared reflectance. **Agron. J.**, v. 93, p. 125-131, 2001.

DEAVILLE, E. R.; FLINN, P. C.; Near-infrared (NIR) spectroscopy: an alternative approach for the estimation of forage quality and voluntary intake. In: GIVENS, D.I., OWEN, E., AXFORD, R.F.E., OMED, H.M. (Eds.), **Forage Evaluation in Ruminant Nutrition.**, CABI Publishing, UK, p. 301-320, 2000.

DEMIATE, I. M.; DUPUY, N.; HUVENNE, J. P.; CEREDA, M. P.; WOSIACKI, G. Relationship between baking behavior of modified cassava starches and starch chemical structure determined by FTIR spectroscopy. **Carbohydrate Polymers.**, v. 42, n. 2, p. 149-158, Jun., 2000.

DEMING, S.; MORGAN, S.; **Experimental Design: A Chemometric Approach.** second ed.), Elsevier, Amsterdam. 1993.

DUBOIS, J.; VAN DE VOORT, F. R.; SEDMAN, I.; ISMAIL, A. A.; RAMASWAMY, H. R.; Quantative fourier transform infrared analysis for anisidine value aldehydes in thermally stressed oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, v. 73, p. 787–794, 1996.

EL HAJJOUJI, H.; BAILLY, J. R.; WINTERTON, P.; MERLINA, G.; REVEL, J. C. HAFIDI, M. Chemical and spectroscopic analysis of olive mill waste water during a biological treatment. **Bioresource Technology**., v. 99, p. 4958-4965, 2008.

EPAMIG - EMPRESA DE PESQUISA AGOPECUÁRIA DE MINAS GERAIS . **Os Queijos da Fazenda**. 4. ed. São Paulo: Editora Globo S. A, 1988. 219 p.

FARKEY, N. Y.; FOX. P. F.; Objective indices of cheese ripening. **Trends in Food Science & Technology**, p.34-40, Ago,. 1990.

FERRÃO, M. F.; CARVALHO, C. W.; MULLER, E. I.; DAVANZO, C. U.; Determinação simultânea dos teores de cinza e proteína em farinha de trigo empregando NIR-PLS e DRIFT-PLS. **Ciência Tecnologia Alimentos**., v.24, n.3, p.333-340, jul/set., 2004.

FERRARINI, H.; **Determinação de Teores nutricionais de milho por espectroscopia de refletância no infravermelho e análise multivariada**. Dissertação de Mestrado, UFPR, 2004.

FERREIRA, M. M. C.; ANTUNES, A. M.; MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. O. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**., v. 22, n. 5, 1999.

FEUDALE, R. N.; WOODY, N. A.; TAN, H.; MYLES, A. J.; BROWN, S. D.; FERRÉ, J.; Transfer of multivariate calibration models: a review, **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 64, n. 2, p.181-192, 2002.

FOX, P. F.; Rennets and their action in cheese manufacture and ripening. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v.10, p.522-535, 1988.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; **Dairy chemistry and biochemistrry**. London: Blackie Academic Professional, 1998. 478p.

FOX, P. F.; MCSWEENEY, P. L. H.; **Cheese: An Overview. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**., Third edition., v.1, 2004.

FREIRE, R. S.; PELEGRINE R.; KUBOTA L.T.; DURAN, N.; PERALTA-ZAMORA, P.; **Quím. Nova**., v.23, n.4, jul./ago. 2000.

FRØST, M. B.; DIJKSTERHUIS, G.; MARTENS, M.; Sensory perception of fat in milk. **Food Quality and Preference**, v. 12, n. 5-7, p. 327-336, jul./set., 2001.

FURTADO, M. M.; **A arte e a ciência do queijo**. 2 Edição. São Paulo: Globo. 1990, 297p.

FURTADO, M. M.; A Formação de olhaduras em queijos semi-duros através da fermentação de citratos. **Ind. de Lat.**, Jul/ago., 2002.

FURTADO, M. M.; LOURENÇO NETO, J. P. M.; **Tecnologia de queijos**: Manual técnico para a produção industrial de queijos. São Paulo: Dipemar Ltda, 1994. 118p.

GARCÍA, M. C.; TORRE, M.; MARINA, M. L.; Characterization of commercial soybean products by conventional and perfusion reversed-phase high-performance liquid chromatography and multivariate analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 881, n. 1-2, p. 47-57. Jun., 2000.

GELADI, P. AND KOWALSKI, B.R. "PLS Tutorial". **Anal. Chim. Acta**, v. 185, n. 1, 1986.

GELADI, P.; ESBENSEN, K. (a); The start and early history of chemometrics: selected interviews, Part 1. **J. Chemometr.**, v. 4, p. 337-354, 1990.

GELADI, P. ESBENSEN, K. (b); The start and early history of chemometrics: selected interviews, Part 2. **J. Chemometr.**, v. 4, p. 389-412, 1990.

GELADI, P.; Some recent trends in the calibration literature. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 60, n 1-2, p. 211-224, Jan., 2002.

GELADI, P.; Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. **Spectrochimica Acta Part B**: Atomic Spectroscopy., v. 58, n. 5, p. 767-782, mai., 2003.

GUÉGUEN, L.; Interactions lipides-calcium et biodisponibilité du calcium du fromage. **Cah. Nutr. Diét.**, v. 27, p. 311-315, 1992.

GUÉGUEN, L. M.; POINTILLART, A. D. V. M.; The Bioavailability of Dietary Calcium **J. of the Am. Coll. of Nutr.**, v. 19, n. 2, p.119-136, 2000.

GUINEE, T. P.; FEENEY, E. P.; AUTY, M. A. E.; FOX, P. F.; Effect of pH and Calcium Concentration on Some Textural and Functional Properties of Mozzarella Cheese. **J. Dairy Sci.**, v. 85, p.1655–1669, 2002.

GRAPPIN, R.; RANK, T.C.; OLSON, N.F. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening. A Review. **J. Dairy Science**. v. 68, n. 3, p. 531-540, 1985.

HAALAND, D. M.; **Multivariate calibration Methods Aplied to quantitative FT-IR Analysis Pratical Fourier Trasform Infrared Spectroscopy**. Industrial and Laboratory chemical analysis, In: John R. Ferraro, K. Krishman, San Diego, Academic Press, p. 395-469, 1990.

HAALAND, D. M.; THOMAS, E. V.; "Partial Least-Squares Methods for Spectral Analysis. 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information". **Anal. Chen.**, v. 60, p.1193-1202, 1988.

HATCH F. T.; KNIZE M. G.; MOORE D. H.; FELTON, J. S.; Quantitative correlation of mutagenic and carcinogenic potencies for heterocyclic amines from cooked foods and additional aromatic amines. **Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects.**, v. 271, n. 3, p. 269-287, jun., 1992.

HE, Y.; HUANG, M.; GARCÍA, A.; HERNÁNDEZ, A.; SONG, H. Prediction of soil macronutrients content using near-infrared spectroscopy. **Computers and Electronics in Agriculture.**, v. 58, p. 144-153, 2007.

HELLAND, I. S.; NAES, T.; ISAKSSON, T.; Related Versions of the Multiplicative Scatter correction Method for Processing Spectroscopic Data. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 29, p. 233-241, 1995.

HÖSKULDSSON, A., **Prediction Methods in Science and Technology**, Thor Publishing, Denmark, 1996.

HUSSON, F.; LÊ, S.; PAËS, J. Variability of the representation of the variables resulting from PCA in the case of a conventional sensory profile. **Food Quality and Preference.**, v. 18, p. 933–937, 2007.

IDE, L. P. de A; BENEDET, H. D.; Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.25, n.6, p.1351-1358, nov./dez., 2001.

IRUDAYARAJ, J.; YANG, H.; SAKHAMURI, S.; Differentiation and detection of microorganisms using Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. **J. of Molecular Structure.**, v. 606, n. 1-3, p. 181-188, mar., 2002.

IRUDAYARAJ, J.; YANG, H.; Depth profiling of a heterogeneous food-packaging model using step-scan Fourier transform infrared photoacoustic spectroscopy. **J. of Food Engineering.**, v. 55, n. 1, p. 25-33, Nov., 2002.

JANKOVSKÁ, R.; ŠUSTOVÁ, K.; Analysis of cow milk by near-infrared spectroscopy. **Czech J. Food Sci.**, v. 21, p.123-128, 2003.

JONES, P. D.; SCHIMLECK, L. R.; PETER, G. F.; DANIELS; R. F.; CLARK III, A. Nondestructive estimation of wood chemical composition of sections of radial wood strips by diffuse reflectance near infrared spectroscopy. **Wood Science and Technology.**, v. 40, n. 8, p. 709-720, Dez., 2006.

KALASINSKY, K. S.; Industrial applications of Vibrational Spectroscopic. **Trend. Anal. Chem.**, v. 9, p. 83-89, 1990.

KARÁSEK, P.; PLANETA, J.; OSTRÁ, E. V.; MIKEOVÁ, M.; GOLIÁ, J.; ROTH, M.; VEJROSTA, J.; Direct continuous supercritical fluid extraction as a novel method of wine analysis. Comparison with conventional indirect extraction and implications for wine variety identification. **Journal of Chromatography.**, v. 1002, n. 1-2 , p. 13-23, Jun., 2003.

KAROUI, R.; MOUAZEN, A. M.; RAMON, H.; SCHOONHEYDT, R.; BAERDEMAEKER, De J. Feasibility study of discriminating the manufacturing process and sampling zone in ripened soft cheeses using attenuate and total reflectance MIR and fiber optic diffuse reflectance VIS–NIR spectroscopy. **Food Research International**, v. 39, p. 588–597, 2006.

KAVANAGH, G. M.; CLARK, A. H.; ROSS-MURPHY, S. B.; Heat-induced gelation of globular proteins: part 3. Molecular studies on low pH beta-lactoglobulin gels **International J. Biol. Macrom.**, v. 28, p. 41, 2000.

KÖLLMANN, C. J. W.; PENDERS, J. A. **Process for the preparation of cheese and so prepared cheese**. European Patent n. EP0405692, 28 jun. 1900, 13 jan.1993.

LEE, C-S. Diagnostic, predictive and compositional modeling with data mining in integrated learning environments. **Computers & Education**, v. 49, p. 562–580, 2007.

LEFÈVRE, T.; SUBIRADE, M.; Molecular structure and interaction of biopolymers as viewed by Fourier transform infrared spectroscopy: model studies on -lactoglobulin. **Food Hydrocolloids**, v. 15, n. 4-6, p. 365-376, Jul., 2001.

LEITE, Z. T.C. *et al.*; Milk and some of its derivatives: from antiquity to the present time. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 4, 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php>. Acesso em: 26 May 2007. Pré-publicação.

LEWIS, G.; MATHIEU, D.; PHAN-TAN-LUU, R.; **Pharmaceutical Experimental Design**, Marcel Dekker, New York, NY.1998.

LI, X.; HE, Y.; WU, C.; SUN, D-W. Nondestructive measurement and fingerprint analysis of soluble solid content of tea soft drink based on Vis/NIR spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 316-323, 2007.

LINDSAY, I. S. **A tutorial on principal components analysis**. 2002. Disponível em: <http://kybele.psych.cornell.edu>. Acesso em 7 julho de 2007.

LIU, F.; HE, Y.; WANG, L.; PAN, H. Feasibility of the use of visible and near infrared spectroscopy to assess soluble solids content and pH of rice wines. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 430-435, 2007.

LOBATO, V.; **Tecnologia de fabricação de derivados do leite na propriedade rural**. Editora ufla. Lavras. 2004. 33p.

LORBER, A., WANGEN, L. E.; KOWALSKI, B. R. “A Theoretical Foundation for the PLS Algorithm,” **J. Chemometrics**, v. 1, p.19, 1987.

LULLIEN-PELLERIN, V.; BALNY, C.; High-pressure as a tool to study some proteins' properties: conformational modification, activity and oligomeric dissociation. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 3, n 3, p. 209-221, set., 2002.

MACHADO, E. C., FERREIRA, C. L. L. F., FONSECA, L. M. *et al.* Physico-chemical and sensorial properties of artisanal Minas cheese produced in the region of Serro, Minas Gerais. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 24, n. 4, 2004.

MACGREGOR, J.F. Using On-Line Process Data to Improve Quality: Challenges for Statisticians. **Int. Stat. Review**, v.65, p. 309-323, 1997.

MADEJOVA, J.; FTIR techniques in clay mineral studies: a review. **Vibrat. Spectrosc.**, v. 31, p. 1-10, 2003.

MANDALA, I.; KARABELA, D.; KOSTAROPOULOS. A.Physical properties of breads containing hydrocolloids stored at low temperature. I. Effect of chilling. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p.1397–1406, 2007.

MARTENS, H.; NAES, T.; **Multivariate Calibration**. Wiley, Chichester 1989.

MARTENS, H.; MARTENS, M.; **Multivariate Analysis of Quality, An Introduction**. Wiley, Chichester. 2000.

MASSART, D. L.; VANDEGINSTE, B. G. M.; DEMING, S. N.; MICHOTTE, Y.; KAUFMAN, L.; **Chemometrics: A textbook**, v.2, ed. Elsevier, 1988.

MCQUEEN, D. H.; WILSON, R.; KINNUNEN, A.; JENSEN, E. P.; Comparison of two infrared spectroscopic methods for cheese analysis. **Talanta**, v. 42, n. 12, p. 2007-2015, dez., 1995.

MELLO, C. A. de. **Redes Neurais e técnicas de pré-processamento de sinais em Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Próximo**. Tese de doutorado. UNICAMP, Campinas, 1998.

MEYERS, R.; MONTGOMERY, D.; **Response surface methodology. Process and Product Optimization Using Designed Experiments**, Wiley, New York.1995.

MIYAMAE, Y.; YAMAKAWA, Y.; OZAKI, Y.; "Evaluation of Physical Properties of Human Hair by Diffuse Reflectance Near-Infrared Spectroscopy," **Appl. Spectrosc.**, v. 61, p. 212-217, 2007.

MORENO, M. C. M. M. D.; OLIVARES, D. M.; LÓPEZ, F. J. A.; ADELANTADO, J. V. G.; REIG, F. B. (a); Analytical evaluation of polyunsaturated fatty acids degradation during thermal oxidation of edible oils by Fourier transform infrared spectroscopy. **Talanta**, v. 50, n. 2, p. 269-275, set. 1999.

MORENO, M. C. M. M. D.; OLIVARES, D. M.; LÓPEZ, F. J. A.; ADELANTADO, J. V. G. REIG, F. B. (b). Determination of unsaturation grade and trans isomers generated during thermal oxidation of edible oils and fats by FTIR. **Journal of Molecular Structure**, v. 25, p. 551-556, mai., 1999.

MORENO, I.; VAN DENDER, A. G. F.; COSTA, G. A. N.; VIALTA, A.; LERAYER, A. L. S.; SILVA, A. T.; DESTRO, M. T. **Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios**. p. 270-273, 2001.

MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A. L. S.; DESTRO, M.; A importância da microbiota adicionada e autóctone na maturação de queijo Prato. **Indústria de Laticínios**, v. 7, n. 39, p.59-62, 2002.

MORETTI, B. R.; NABUCO, A. C.; PENNA, A. L. B.; Evolução dos Índices de Maturação do Queijo Prato. **Anais do XXI Congresso Nacional de Laticínios**. p. 363-366, 2001.

MORGAN, E.; **Chemometrics: Experimental Design**. Wiley, Chichester.1991.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G.; FERRÃO, M. F.; BRAGAGNOLO, N.; FERREIRA, M.M.C. Determinação de Proteína em café cru por espectroscopia NIR e Regressão PLS1. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.25, n.1, p. 25-31, jan./mar., 2005.

MORGANO, M. A.; FARIA, C. G. de, FERRAO, M. F.; FERREIRA, M. M. C.. Determinação de açúcar total em café cru por espectroscopia no infravermelho próximo e regressão por mínimos quadrados parciais. **Quím. Nova**, v.30, n.2, p.346-350, mar./abr., 2007.

MU, S.; FENG, S.; Vitamin E TPGS used as emulsifier in the solvent evaporation/extraction technique for fabrication of polymeric nanospheres for controlled release of paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>). **Journal of Controlled Release**, v. 80, n. 1-3, p.129-144, Abr., 2002.

MURRAY, I.; The NIR spectra of homologous series of organic compounds. In: Hollo, J., Kaffka, K.J., Gonczy, J.L. (Eds.), **Proceedings of the International NIR/NIT Conference**, Akademiai Kiado, Budapest, p. 13-28, 1986.

MURRAY, I.; Forage analysis by near-infrared spectroscopy. In: DAVIES, A., BAKER, R.D., GRANT, S.A., LAIDLAW, A.S. (Eds.), **Sward Herbage Measurement Handbook**. British Grassland Society, Reading, UK, cap. 14, p. 285–312, 1993.

NAES, T.; ISAKSSON, T.; FEARN, T.; DAVIES, T.; A User-friendly Guide to Multivariate Calibration and Classification. **NIR Publications**, Chichester, UK. 2002.

NARIMATSU, A.; DORNELLAS, J. R. F.; SPADOTI, L. M.; PIZAIA, P. D.; ROIG, S. M. Avaliação da proteólise e do derretimento do queijo prato obtido por ultrafiltração. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.23, 2003.

OSBORNE, B. G. Near-infrared Spectroscopy in Food Analysis. **Encyclopedia of Analytical Chemistry**, p. 1-14, 2006.

ÔUNPUU, S.; WOOLCOTT, D. M.; GREENE, G. W.; Defining Stage-of-Change for Lower-Fat Eating. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 100, n. 6, p. 674-679, jun., 2000.

PARK, B., CHEN, Y. R., HRUSCHKA, W. R., SHACKELFORD, S. D., & KOOHARAIE, M. Principle component regression of nearinfrared reflectance spectra for beef tenderness prediction. **Transactions of the ASAE**, v., 44, p. 609-615, 2001.

PASQUINI, C.; Near Infrared Spectroscopy: Fundamentals, Practical Aspects and Analytical Applications. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 14, n. 2, p. 198-219, 2003.

PASQUINI, C.; **I Seminário de Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR)**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

PEREIRA, D. B. C.; SILVA, H. F.; OLIVEIRA, L. L.; COSTA-JUNIOR, L. C. G.; **Físico-química de leite e derivados: métodos analíticos**. Juiz de fora: EPAMIG; Templo Gráfica e editora Ltda. 2001. 234p.

PERRY, K. S. P.; Cheese: chemical, biochemical and microbiological aspects. **Quím. Nova**. São Paulo, v. 27, n. 2, 2004.

POLAT, K.; GÜNES, S. Automatic determination of diseases related to lymph system from lymphography data using principles component analysis (PCA), fuzzy weighting pre-processing and ANFIS. **Expert Systems with Applications**, v. 33, p. 636–641, 2007.

POLAT, K.; GÜNES, S. Principles component analysis, fuzzy weighting pre-processing and artificial immune recognition system based diagnostic system for diagnosis of lung cancer. **Expert Systems with Applications**, v. 34, p. 214-221, 2008.

PROBOLA, G.; ZANDER, L. Application of PCA method for characterisation of textural properties of selected ready-to-eat meat products. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 93-98, 2007.

PRIETO, B.; FRANCO, I.; FRESNO, J. M.; PRIETO, J. G.; BERNARDO, A.; CARBALLO, J. Effect of ripening time and type of rennet (farmhouse rennet from kid or commercial calf) on proteolysis during the ripening of León cow milk cheese. **Food Chemistry**, v. 85, p. 389-398, 2004.

QIAO, J.; NGADI, M. O.; WANG, N.; GARIÉPY, C.; PRASHER, S. O. Pork quality and marbling level assessment using a hyperspectral imaging system. **Journal of Food Engineering**, v. 83, p. 10-16, 2007.

QUATTRUCCI, E.; BRUSCHI, L.; MANZI, P.; AROMOLO, R.; PANFILI, G.; Nutritional evaluation of typical and reformulated Italian cheese. **J. sci. food agric.**, v. 73, n. 1, p. 46-52, 1997.

REALINI, C. E. A; DUCKETT, A. S. K.; WINDHAM, W.R.; Effect of vitamin C addition to ground beef from grass-fed or grain-fed sources on color and lipid stability, and prediction of fatty acid composition by near-infrared reflectance analysis. **Meat Science**, v. 68, p. 35-43, 2004.

RECKER, R. R.; BAMMI A.; BARGER-LUX, M. J.; HEANEY, R. P.; Calcium absorbability from milk products, and imitation milk, and calcium carbonate. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 47, p. 93–95, 1988.



REEVES III; J. B.; Use of near-infrared reflectance spectroscopy. In: D'Mello, J.P.F. (Ed.), **Farm Animal Metabolism and Nutrition**. CABI Publishing, UK, Chapter 9, p. 184-209, 2000.

REEVES III; J. B.; Mid-infrared diffuse reflectance spectroscopy: Is sample dilution with KBr necessary, and if so, when? **American Laboratory**, p. 24 – 28, 2003.

RENNER, E.; **Nutritional aspects of cheese**. In. FOX, P. Cheese: Chemistry, Physical and Microbiology. New York, Elsevier Applied Science Publishers LTD, 1987. cap. 7, p. 345-363.

ROGICK, F. A.; Estudo sobre a tecnologia do queijo Prato. **Boletim de Indústria Animal**, v.12, n.131-148, 1951.

ROHWEDDER, J. J. R.; **Disciplina de Espectroscopia no Infravermelho Próximo**. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2006.

ROVILLÉ-SAUSSE F. L'alimentation des Africains vivant em France. **Alimentation et Précarité (CERIN)**, v. 24, p. 1-10, 2004.

RUFINO, J. L. **Desenvolvimento de metodologias analíticas para controle de qualidade de fármacos, utilizando-se técnicas espectroscópicas (NIR E MID) e processos de calibração multivariada (PLS)**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba. 2004.

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 3, 2004.

SANCHES, V. A. A. G.; **Evolução de ácidos graxos e do perfil da textura durante a maturação de queijo prato**. Dissertação de Mestrado. USP -Tecnologia Bioquímica Farmacêutica. 116 p. 2000.

SANDINE, W. E.; ELLIKER, P. R.; Microbially induced flavors and fermented foods. Flavor in fermented dairy products. **J. Agric. Food Chem.**, v. 18, p. 557, 1981.

SANSAL, U.; SOMER, G.; Detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in food samples by FTIR. **Food Chemistry**, v. 65, n. 2, p. 259-261. mai., 1999.

SARVER, R. W. JR.; KRUEGER, W. C.; Protein secondary structure from Fourier transform infrared spectroscopy: a database analysis. **Anal. Biochem.**, v.194, p. 89-100, 1991.

SCHULZ, J. G. **Estudo da formação de slurry para maturação acelerada de queijo prato. Tese de doutorado**. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. Campinas. 2003.

SCOTT, R.; **Cheesemaking operations. Milk as a raw material for cheese**. 2 ed. New York, Elsevier Applied Science Publishers, cap 6.1986. p. 44-74.

SCOTT, R. **Fabricación de queso**. 2a ed. Zaragoza: Editora Acribia. 1991. 520 p.

SKEIE, S.; LINDBERG, C.; NARVHUS, J.; Development of amino acids and organic acids in Norvegia, influence of milk treatment and adjunct Lactobacillus. **Int. Dairy J.**, v. 11, p. 399, 2001.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C.; **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Guanabara Koogan :Rio de Janeiro, 1994.

SINGH, K. P.; MALIK, A.; BASANT, N.; SAXENA, P. Multi-way partial least squares modeling of water quality data. **Analytica Chimica Acta**, v. 584, n.2,19, p. 385-39, 2007.

SMIDT, E.; MEISSEL, K. The applicability of Fourier transforms infrared (FT-IR) spectroscopy in waste management. **Waste Manage**, v.27, p. 268-276, 2006.

SMITH, P. A. M.; Infrared microspectroscopy mapping studies of packaging materials: experiment design and data profiling considerations. **Vibrational Spectroscopy**, v. 24, n. 1, p. 47-62, set., 2000,

SMITH, T. M.; KOLARS, J. C.; SAVAIANO, D. A.; LEVITT, M. D.; Absorption of calcium from milk and yogurt. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 42, p. 1197–1200, 1985.

SNABE, T.; PETERSEN, S. B.; Application of infrared spectroscopy (attenuated total reflection) for monitoring enzymatic activity on substrate films. **Journal of Biotechnology**, v. 95, n.2, 9, p.145-155, mai., 2002.

SOUZA, E. A. de; **Tecnologia de fabricação de queijos**. Editora Lar católico, Juiz de Fora. 1960.

SOUZA, M.J.; ARDO Y.; MCSWEENEY, P.L.H.; Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v.11, p.327-345, 2001.

SPADOTI, L. M.; DORNELLAS, J. R. F; ROIG, S. M.; Proteolysis of prato type cheese produced using ultrafiltration. **Sci. agric.**, Piracicaba, v. 62 n. 3, mai/jun. 2005.

SUREWICZ, W. K.; and MANTSH, H. H. New insight into protein secondary structure from resolution-enhanced infrared spectra Biochim. **Biophys. Acta.**, v. 952, p. 115, 1988.

TRUONG, V. D.; DAUBERT, C. R.; DRAKE, M. A. BAXTER, S. R.; Vane Rheometry for Textural Characterization of Cheddar Cheeses: Correlation with Other Instrumental and Sensory Measurements. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 35, n. 4, p. 305-314, jun., 2002.

UESU, N. Y.; PINEDA, E. A. G.; HECHENLEITNER, A. D. W.; Microcrystalline cellulose from soybean husk: effects of solvent treatments on its properties as acetylsalicylic acid carrier. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 206, n. 1-2, p. 85-96, set., 2000.

URTUBIA, A.; PÉREZ-CORREA, J. R.; SOTO, A.; PSZCZÓLKOWSKI, P. Using data mining techniques to predict industrial wine problem fermentations. **Food Control**, v.18, p. 1512-1517, 2007.

USDA. United States Department of Agriculture. **Dairy: word markets and trade**. FAPRI. 2006.

USDA. United States Department of Agriculture. **Dairy: word markets and trade Circular Archives**. jul. 2007.

VALEILLE, K.; MARTIN, J-C.; Complete stereospecific determination of conjugated linoleic acids in triacylglycerol of milk-fat. **Nutr. Dev.**, v.44, p. 459-464, 2004.

VALLE, J. L. E.; MORENO, I.; DENDER, A. G. F. V.; SOUZA, G.; Evolução da microbiota láctica do queijo prato conservado a temperatura de subcongelamento. **Col. Inst. Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p. 83-91, 1992.

VAN DE VOORT, F.R.; Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. **Food Res. Int.**, v. 25, p. 397-403, 1992.

VANNINI, L.; BALDI, D.; LANCIOTTI, R.; Use of Fourier transform infrared spectroscopy to evaluate the proteolytic activity of *Yarrowia lipolytica* and its contribution to cheese ripening. **International Journal of Food Microbiology**, v. 69, n. 1-2, p. 113-123, set., 2001.

VERRUMA, M. R.; SALGADO, J. M.; Análise química do leite de búfala em comparação ao leite. **Sci. Agric.**, Piracicaba, v. 51, n. 1, p.131-137, jan./abr., 1994.

VIEIRA, S. A.; NEVES, B. S.; Adição de leite reconstituído na fabricação de queijo tipo Prato. **Revista do Instituto de Laticínios de Cândido Tostes**, v.35, n.212, p. 19-26, 1980.

VIGNEAU, E.; QANNARI, E. M.; BERTRA, D.; A new method of regression on latent variables. Application to spectral data, **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 63, n.1, p. 7-14, 2002.

VIRGILI, R.; PAROLARI, G.; BOLZONI, L.; BARBIERI, G.; MANGIA, A.; CARERI, M.; SPAGNOLI, S.; PANARI, G.; ZANNONI, M.; Sensory-Chemical Relationships in Parmigiano-Reggiano Cheese. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v. 27, n. 5, p. 491-495, Out., 1994.

XIE, L.; YING, Y.; YING, T. Combination and comparison of chemometrics methods for identification of transgenic tomatoes using visible and near-infrared diffuse transmittance technique. **Journal of Food Engineering**, v. 82, p. 395-401, 2007.

XU, Q. S.; LIANG, Y. Z. Monte Carlo cross validation. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 56, p.1-11, 2001.

WALSTRA, P.; GEURTS, T. J.; NOOMEN, A.; JELLEM, A.; VAN BOEKEL, M. A. J. S.; **Dairy technology**. New York: Marcel Dekker, Inc 1999. 726p.

WANG, X., & PALIWAL, K. K. Feature extraction and dimensionality reduction algorithms and their applications in vowel recognition. Pattern Recognition, **The Journal of The Pattern Recognition Society**, v. 36, p. 2429-2439, 2003.

WANG, L.; LEE, F. S. C.; WANG, X. Near-infrared spectroscopy for classification of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) and prediction of the glycyrrhizic acid (GA) content. **LWT**, v. 40, p. 83-88, 2007.

WESSLÉN, K. B.; WESSLÉN, B.; Synthesis of amphiphilic amylose and starch derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 47, n. 4, p. 303-311, mar., 2002.

WILSON, R. H., TAPP, H. S. Mid-infrared spectroscopy for food analysis: recent new applications and relevant developments in sample presentation methods. **Trends Anal. Chem.**, Amsterdam, v.18, p.85-93, 1999.

WISE, B. M.; GALLAGHER, N. B.; **PLS toolbox for use with MATLAB**, version 2. egevevector Research, Inc., 1998.

WISE, B. M.; GALLAGHER, N. B.; BRO, R.; SHAVER, J. M. **PLS toolbox for use with MATLAB**, version 3. egevevector Research, Inc., 2003.

WITTRUP, C.; NORGAARD, L. J.; Rapid near infrared spectroscopic screening of chemical parameters in semi-hard cheese using chemometrics. **J. Dairy Sci. Sci.**, v. 81, p. 1803-1809, 1998.

WOJCIECHOWSKI, C.; DUPUY N., HUVENNE, C. D.; TA, J. P.; LEGRAND, P.; Quantitative analysis of water-soluble vitamins by ATR-FTIR spectroscopy. **Food Chemistry**, v. 63, n. 1, p. 133-140, set, 1998.

WOLD, S.; ESBENSEN, K.; GELADI, P.; Principal component analysis, **Chem. Intell. Lab. Sys.**, v. 2, p. 37-52, 1987.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; Índices de proteólise em alguns queijos brasileiros. **Boletim do leite**, v. 55, n 66, p. 1-8, 1983.

WOLFSCHOON-POMBO, A. F.; LIMA, A.; Extensão e profundidade de proteólise em queijo Minas Frescal. **Revista do Instituto de Laticínios de Cândido Tostes**, v. 44, n. 261, p.51-55, 1989.

WOLD, S., RUHE, A. WOLD, H.; DUNN III, W.J. "The Collinearity Problem in Linear Regression. The Partial Least Square Approach to Generalized Inverses", **SIAM J. Sci. Stat. Compute.**, v. 5, p. 735-743, 1994.

---

WONG, S-W.; GEORGAKIS, C.; BOTSARIS, G.; SARANTEAS, K.; BAKALE, R. Factors affecting on-line estimation of diastereomer composition using Raman spectroscopy. **Control Engineering Practice**, v.15, p. 1257-1267, 2007.